Zur Kenntnis des Aufbaues des Fettes der Gerste und ihrer Mälzungsprodukte.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT
(II. SEKTION)
DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT
ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON

GEORG GAMPERL
AUS ARESING.

MÜNCHEN 1931.

ZUR KENNTNIS DES AUFBAUES DES FETTES DER GERSTE UND IHRER MÄLZUNGSPRODUKTE.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Philosophischen Fakultät
II.Sektion
der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München.

Vorgelegt am 30.März 1931

von
Georg Gamperl
aus Aresing.

Tag der mündlichen Prüfung: 20.Juli 1931.
Berichterstatter: Professor Dr.B.Bleyer.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dem Andenken meiner Eltern!

Vorliegende Arbeit wurde im Institut für pharmazeutische und Lebensmittelchemie an der Universität München, das unter Leitung von Herrn Professor Dr.B.Bleyer steht, in der Zeit von Ende Wintersemester 1928/29 bis einschliesslich Wintersemester 1930/31 ausgeführt.

Die Anregung zu dieser Arbeit erhielt ich von Herrn Professor Dr.K.Täufel, der auch die Arbeit leitete und bei deren Ausführung mir stets in liebenswürdiger Weise zur Seite stand.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinen hochverehrten Lehrern,

Herrn Professor Dr.B.Bleyer,

sowie Herrn Professor Dr.K.Täufel,

meinen ergebensten Dank auszusprechen für das Interesse und Wohlwollen, das sie jederzeit meinen Studien entgegenbrachten.

Inhalt.

Seite

I. Einleitung 1

II. Über die Sterine von Gersten-, Malz- und Treberfett 7

1. Verseifungszahl 11

2. Abscheidung und Ermittlung der am Aufbau beteiligten Fettsäure 11

3. Abscheidung und Ermittlung der am Aufbau beteiligten alkoholischen Komponente ... 13

4. Zerlegung des abgeschiedenen Sterins in einen gesättigten und einen ungesättigten Anteil 22

III. Über die Glyzeride von Gersten-, Malz- und Treberfett 27

1. Allgemeines 27

2. Elaidinierung 34

a) Beschreibung der Versuche 36
b) Identifizierung der Elaidinierungsprodukte 40

3. Bromierung 44

a) Beschreibung der Versuche 47
b) Das Bromglyzerid des Gerstenfettes .. 48
c) Die Bromglyzeride des Malz- und Treberfettes 53

IV. Über die Phosphatide der untersuchten Fette 57

a) Bestimmung des Phosphors 57
b) Bestimmung des Stickstoffes 58

V. Zusammenfassung 59

I. Einleitung.

Als wichtige Nährstoffe einerseits sowie technologisch vielseitig verwendete Rohstoffe anderseits stehen die Fette und Öle im Mittelpunkt der theoretischen und praktischen Forschung. Die Ergebnisse der Untersuchungen auf diesem Gebiete während der letzten Dezennien haben gelehrt, dass die Eigenschaften dieser Produkte durch die blosse Ermittlung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung nur teilweise definiert sind. Um bestimmtere Aussagen über das Verhalten dieser Stoffe machen zu können, ist es vielmehr notwendig, ihren inneren Aufbau kennen zu lernen. Insbesondere ist dabei den Fragen nach der Verknüpfung der einzelnen Fettsäuren mit dem Glyzerin, also der Konstitution der Glyzeridmolekel, Aufmerksamkeit zu schenken. Man weiss heute, dass bei einer relativ beschränkten Anzahl von Bausteinen die Mannigfaltigkeit der Fette auf das Nebeneinander von ein-, zwei- und dreisäurigen Glyzeriden sowie deren Isomeren zurückzuführen ist. Gerade auf diesem Gebiete sind unsere Kenntnisse noch recht lückenhaft, und jede weitere wissenschaftliche Aufklärung der theoretischen Fragestellungen wird mittelbar und unmittelbar auch die Technologie der Fette fördern.

Die präparative und analytische Behandlung der Fette in der eben erwähnten Richtung stösst auf erhebliche Schwierigkeiten. Die Eigenschaftsunterschiede zwischen den verschiedenen Glyzeriden sind vielfach zu wenig ausgeprägt, um darauf exakte Verfahren der Trennung gründen zu können. Wohl gelingt

es, unter Benutzung von Löslichkeits- und Flüchtigkeitsunterschieden sowie auf Grund von Unterschieden im Grad des ungesättigten Charakters, Glyzeridgemische zu zerlegen. Voraussetzung aber ist dafür, dass die am Aufbau beteiligten Fettsäuren deutlich fassbare Unterschiede im Verhalten aufweisen. Dies ist meistens nur bei weit auseinanderliegenden Gliedern der hier beteiligten homologen Reihen der Fettsäuren der Fall. Benachbarte Vertreter unterscheiden sich im allgemeinen nur wenig, und diese geringen Unterschiede schwächen sich bei ihrer Verknüpfung zum Glyzerid-Molekül vielfach noch ab. Der Fortschritt auf dem Gebiet der Glyzeridforschung ist somit aufs engste mit der Ausbildung und Ausgestaltung der präparativen und analytischen Methodik verknüpft.

Die vorstehenden Ausführungen über die Glyzeride können sinngemäss auf die Begleitstoffe der natürlichen Fette ausgedehnt werden. Wenn auch die hier in Betracht kommenden Sterine bzw. ihre Ester sowie die Phosphatide in den Fetten meist mengenmässig zurücktreten, so erscheint trotzdem ihre wissenschaftliche Bearbeitung insbesondere aus biochemischen Gesichtspunkten heraus umso interessanter und wünschenswerter.

Zu den Fetten, über deren konstitutionellen Aufbau nur sehr wenig bekannt ist, gehört das Fett der Gerste; auch die Lipoidkomponente ihrer Mälzungsprodukte ist bisher kaum Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Es liegen zwar einige nicht zusammenhängende Ansätze vor, jedoch fehlt eine einheitlich durchgeführte, systematische Bearbeitung.

Als eine der ersten Angaben über das Gersten- und Malzkeim-Fett bringt A.Stellwaag[1] einige Daten. Er fand gelegentlich seiner Untersuchungen über die Zusammensetzung verschiedener Futtermittel im Gerstenfett ca. 3/4 Neutralfett, ferner „Cholesterin"[2] und Lecithin, im Malzkeim-Fett aber 1/3 Unverseifbares, grösstenteils aus „Cholesterin" bestehend, und nur 2/3 Reinfett, das zur Hälfte und darüber freie Fettsäuren, dagegen wenig Lecithin enthält.

Weiterhin berichtet M.Wallerstein[3], dass die flüssigen Fettsäuren des Malzfettes aus Öl-, Linol- und Linolensäure bestehen. Diese Angaben werden später von H.Lüers[4] bestätigt. J.Sedlmeyer[5] findet gelegentlich seiner Untersuchungen im Unverseifbaren des Gersten- und Malzfettes Sitosterin und ein Para-Sitosterin, das im Jahre 1897 schon von R.Burián[6] erwähnt wird. Eingehend mit der Zusammensetzung der Fette von Gerste und ihren Mälzungsprodukten hat sich neuerdings M.Rusch[7] beschäftigt. Eine in Bezug auf Herkunft und Eigenschaften einheitliche Gerste als Ausgangsmaterial zugrunde legend, bringt diese Arbeit genauere Angaben über den Gehalt des Fettes nach Art und Menge der am Aufbau beteiligten Fettsäuren. Insbesondere wird darin auch bilanzmässig der Einfluss des Mälzungsprozesses verfolgt. Es stellt sich heraus,

---

1) Diss. Leipzig 1889.
2) Dem damaligen Stand der Erkenntnis entsprechend gebraucht Stellwaag den Begriff „Cholesterin", an dessen Stelle wir heute Phytosterin sagen.
3) Forschungsberichte über Lebensmittel 3, 372 (1896).
4) Diss. München, Techn.Hochschule 1914.
5) Diss. München, Universität 1920.
6) Sitzungsber.d.K.A. 1897, 549; Monatsh.Chem. 18, 551-574 (1897).
7) Diss. München, Universität 1928.

dass beim Auskeimen der Gerste ein Verbrauch an Trockensubstanz von insgesamt 11 % stattfindet, der sich zum etwa achten Teil davon (12 %) auf die Fettkomponente erstreckt. Dieser Verlust an Fett betrifft hauptsächlich die vorhandene Ölsäure. Interessant ist die während des Keimungsvorganges erfolgende Neubildung von Unverseifbarem und dessen Aureicherung in den Keimen. Daraus darf der Schluss gezogen werden, dass der Stoffraktion des Unverseifbaren vielleicht eine besondere biologische Bedeutung zukommt.

Durch die weitgehende Aufklärung der Zusammensetzung von Gersten-, Malz-, Keim- und Treberfett durch M.Rusch war die Voraussetzung dafür geschaffen, die Bearbeitung der Frage nach dem konstitutionellen Aufbau dieser Fettarten aufzugreifen. Von besonderem Vorteil war es dabei, dass von den Fetten, die M.Rusch bei seinen Untersuchungen selbst dargestellt und verwendet hatte, noch genügende Mengen für die in Aussicht genommenen Untersuchungen vorhanden waren[1].

Das Untersuchungsmaterial, nämlich Gersten-, Malz- und Treberfett, war etwa 2 Jahre alt. Es war in braunen Glasflaschen unter Kohlensäure und Wachsverschluss im Keller und im Dunkeln aufbewahrt gewesen. Dass der Einfluss von Temperatur, Licht und Luft auf diese Weise weitgehend ausgeschaltet war, zeigte insbesondere der negative Befund der Verdorbenheitsreaktion nach H.Kreis[2]. Im gleichen Sinne

---

1) Herrn Dr.M.Rusch bin ich für die freundliche Überlassung des Untersuchungsmaterials zu bestem Dank verpflichtet, den ich auch an dieser Stelle zum Ausdruck bringen möchte.

2) Nach A.Grün, Analyse der Fette und Wachse. Bd.1, S.337. Verlag J.Springer, Berlin 1925.

wurde eine Bestimmung der Säure-, der Verseifungs- und der Jodzahl durchgeführt; die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Gegenüberstellung der Kennzahlen von Gersten-, Malz- und Treberfett bei Untersuchungen im Herbst 1926 und im Frühjahr 1929.

		Bestimmung von M. Rusch[1] (Herbst 1926)	Eigene Bestimmung (Frühjahr 1929)
Gerstenfett	S.Z.[2]	29,0	29,6
	V.Z.	188,4	187,9
	J.Z.	113,5	109,8
Malzfett	S.Z.	27,9	29,2
	V.Z.	176,6	173,5
	J.Z.	116,9	112,5
Treberfett	S.Z.	40,3	39,2
	V.Z.	172,3	172,6
	J.Z.	104,9	104,0

Die vorstehenden Angaben zeigen, dass an den Fetten während des etwa 2 ½-jährigen Lagerns in Betracht kommen-

1) Vgl. Diss. M. Rusch, S.15.

2) Die Abkürzungen bedeuten: S.Z. = Säurezahl, V.Z. = Verseifungszahl, J.Z. = Jodzahl.

de chemische Veränderungen nicht eingetreten sein dürften. Alle drei Fette hatten sich während des Aufbewahrens, wahrscheinlich infolge der relativ niedrigen Kellertemperatur, in zwei Schichten getrennt, nämlich in eine feste untere und eine flüssige obere. Da beim Abnutschen stets ein trübes, also durch abgeschiedene feste Teile verunreinigtes Öl durch das Filter ging, wurde statt des Filtrierens mit der Saugpumpe ein grosser Trichter mit Faltenfilter verwendet. Dadurch war zwar die Zeit des Filtrierens bedeutend verlängert, es wurde dabei aber ein blankes, klares Filtrat erhalten. Der Einfluss der Luft wurde tunlichst dadurch ausgeschaltet, dass ständig unter Kohlendioxyd-Atmosphäre gearbeitet wurde. Das auf diese Weise aus dem Gerstenfett erhaltene klare Öl - Malz- und Treberfett wurden analog behandelt - wurde wieder unter Kohlendioxyd-Atmosphäre in gasdicht verschlossenen Flaschen für spätere Untersuchungen aufbewahrt. Auf dem Filter blieb eine braune, schmierige Substanz zurück, die durch anhaftendes Öl stark verunreinigt war. Zu ihrer Identifizierung wurden die im nachstehenden Abschnitt II beschriebenen Untersuchungen angestellt.

II. Über die Sterine von Gersten-, Malz- und Treberfett.

Es lag die Vermutung nahe, dass die oben erwähnten festen Ausscheidungen, die sich aus dem Gersten-, Malz- und Treberfett abgesetzt hatten, Glyzeride von insbesondere gesättigten Fettsäuren waren, die infolge ihres höheren Schmelzpunktes bei der langen Lagerung bei Kellertemperatur auskrystallisiert waren. Die erste Aufgabe bestand darin, diese Substanz von den anhaftenden flüssigen Glyzeriden der Öl-, Linol- und Linolensäure zu befreien. Richtunggebend für diese Untersuchungen war die Überlegung, dass der feste Anteil in irgend einem organischen Lösungsmittel schwerer löslich sein dürfte als die erwähnten Glyzeride. Die nachstehend beschriebenen Untersuchungen befassen sich zunächst nur mit dem Gerstenfett.

Zuerst wurde versucht, mit Alkohol eine Trennung zu erzielen. Dabei zeigte sich, dass das Öl in der Kälte darin zu wenig löslich war. Beim Erwärmen aber ging auch der feste Anteil vollständig in Lösung. Beim langsamen Erkalten schied sich bei 60°, wie es schien, ein gut filtrierbarer Niederschlag aus. Da sich aber schon bei 45° die ganze Lösung in eine milchige, nicht filtrierbare Emulsion verwandelte, musste auf den Alkohol als für die vorzunehmende Fraktionierung ungeeignetes Lösungsmittel verzichtet werden.

Es war notwendig, durch systematische Löslichkeitsversuche das hier in Betracht kommende Solvens zu ermitteln.

Auf Grund einer grösseren Anzahl von Vorversuchen ergab sich, dass eine Mischung von Alkohol (96 Vol.-%) und Petroläther (Sdp. 52-56°) im Verhältnis von 2 : 1 die günstigsten Resultate lieferte. Es gelang damit, beim Erhitzen bis zum Sieden das gesamte Fett einschliesslich der festen Abscheidungen zu lösen. Beim langsamen Erkalten schieden sich in grosser Menge braune Krystalle aus, für die feine Fieder- bzw. Sternform charakteristisch war. Beim Absaugen blieben dieselben auf dem Filter zurück, während das Öl in gelöster Form ins Filtrat ging. Nach Verdunsten des Petroläther - Alkohol - Gemisches blieb ein ziemlich dünnflüssiges Öl zurück, das stark verschmutzt aussah. Ein Versuch, daraus durch Änderung des Lösungsmittels in Bezug auf Menge und Zusammensetzung nochmals eine feste Substanz abzuscheiden, gelang nicht. Es war darum anzunehmen, dass der flüssige Rückstand der Petroläther - Alkohol - Lösung zum grössten Teil aus dem der festen Substanz anhaftenden Öl bestand, dessen Untersuchung für später in Aussicht genommen war.

Die auf dem Filter zurückgebliebenen Krystalle wurden nun einer weiteren Reinigung unterworfen. Bei dieser Arbeit musste das Hauptgewicht darauf gelegt werden, durch eine Behandlung bei höheren Temperaturen nicht etwa eine Zerstörung oder Veränderung herbeizuführen. Bei diesen Versuchen wurde die Substanz wegen des viel grösseren Lösungsvermögens in Chloroform gelöst und dann durch Zugabe von relativ viel Aceton (bis zur vierfachen Menge) wieder tunlichst vollständig zum Ausfällen gebracht. Beim Absau-

gen blieb dann auf dem Filter eine fast rein weisse, mehlige Substanz zurück, die nach dem Trocknen einen Schmelzpunkt von 84,5° zeigte. Eine Wiederholung der eben beschriebenen Reinigungsoperation mit neuem Ausgangsmaterial ergab bei der ersten Abscheidung Krystallfraktionen, die Schmelzpunkte zwischen 86 und 89° zeigten. Sie wurden vereinigt und wiederum aus Chloroform umgelöst. Aus der filtrierten Lösung erfolgte diesmal das Ausfällen mit Alkohol und Wasser. Zu diesem Fällungsmittel wurde gegriffen, weil bei Vorversuchen festgestellt war, dass die Abscheidung der zu identifizierenden Substanz mit Aceton nur unvollständig verlief. Diese erste Reinigung lieferte ein mehliges, rein weisses Produkt vom Schmelzpunkt 89,0°, das beim Umkrystallisieren aus dem erwähnten Alkohol - Petroläther-Gemisch die gleichen Krystalle lieferte, wie sie vorher beschrieben worden sind. Bei öfter wiederholter Umfällung der Substanz aus Chloroform (Abscheidung durch wässerigen Alkohol) sank der Schmelzpunkt etwas, bis er schliesslich bei 88,5° (unkorrigiert) halt machte. Die Einheitlichkeit der Substanz wurde nach dem Vorgange von Duffy daraus erschlossen, dass eine vollständige Übereinstimmung der Schmelzpunkte der Krystalle aus der Lösung sowie derjenigen aus der Mutterlauge bestand[1]. Das Produkt erwies sich ferner als neutral, wie aus dem negativen Befund bei Ermittlung der Säurezahl hervorging.

---

1) Vgl. A. Grün, loc cit., S.255.

Auf Grund der Untersuchungen von M.Rusch[1] sind im Gerstenfett von höher schmelzenden Fettsäuren Palmitin- und Stearinsäure vorhanden. Es kann somit als höchst schmelzendes Glyzerid nur Tristearin (Smp. 71,6 bis 73,2°) [2] erwartet werden. Bei dem isolierten Produkt vom Schmelzpunkt 88,5° dürfte es sich somit nicht um ein Glyzerid handeln. Es liegt vielmehr auf Grund des ganzen Verhaltens die Vermutung nahe, dass es in die Gruppe des Unverseifbaren gehört - sei es, dass ein höherer Alkohol, sei es, dass der zugehörige Fettsäureester in Betracht kommt. Aus diesem Grunde wurden zunächst die üblichen qualitativen Vorproben auf Sterine angestellt. Die von A.Grün[3] angegebene Reaktion (Erhitzen mit Essigsäureanhydrid) wies auf Sterine hin. Dieser Befund wurde durch den positiven Ausfall der Reaktion nach Hager-Salkowski [4] sowie derjenigen nach Liebermann-Burchard [4] bestätigt. Der beobachtete Schmelzpunkt von 88,5° legte die Vermutung des Vorliegens eines Phytosterin-Palmitates nahe, für das in der Literatur ein Schmelzpunkt von 88 - 88,5° [5] angegeben wird. Zwecks Aufklärung der unbekannten Substanz wurde einerseits die Verseifungszahl bestimmt; anderseits der Versuch gemacht, die in Betracht kommenden Komponenten abzuscheiden und zu identifizieren.

---

1) loc.cit.
2) Vgl. A.Grün, loc.cit., S.47.
3) loc.cit., S.258.
4) A.Grün, Analyse der Fette und Wachse, S.259. Verlag J.Springer, Berlin 1925.
5) R.J.Anderson, Journ.Biol.Chem. 55, 611 (1923); Chem.Ztrbl. 1923, III, S.159.

1. Verseifungszahl. Die Ermittlung der Verseifungszahl stiess, eigentlich nicht unerwartet, auf gewisse Schwierigkeiten. Bei ½-stündigem Erhitzen mit ½ n alkoholischer Kalilauge im Überschuss wurde experimentell eine Verseifungszahl von 51,4 gefunden.

0,3690 g Substanz verbrauchten 18,98 mg KOH; V.Z. = 51,4.

Bei 2 ½-stündigem Verseifen wurde eine Verseifungszahl von 95,9 erhalten.

0,2335 g Substanz verbrauchten 22,44 mg KOH; V.Z. = 95,9.

Für Sitosterin-Palmitat kommt eine theoretische Verseifungszahl von 89,90 in Betracht, für Sitosterin-Stearat eine solche von 86,04. Der experimentell gefundene Wert von 95,9 dürfte damit, wenn man die abnorm lange Verseifungszeit von 2 ½ Stunden berücksichtigt, ein Hinweis für das Vorliegen von Sitosterin-Palmitat sein.

2. Abscheidung und Ermittlung der am Aufbau beteiligten Fettsäure. Nachdem durch die vollzogene Verseifung das Vorliegen eines Esters festgestellt war, wurde zur Isolierung der Fettsäure geschritten. Zu diesem Zwecke musste zuerst das Unverseifbare, d.h. die alkoholische Komponente des vorliegenden Esters, aus der Seifenlösung entfernt werden, da es sonst später bei der Extraktion mit Äther, um die Fettsäure abzuscheiden, mit in Lösung gegangen wäre. Es wurde deshalb zunächst die bei der Bestimmung der Verseifungszahl erhaltene alkoholische Sei-

fenlösung mit der doppelten Menge Wasser versetzt - um die Löslichkeit des Äthers in der alkoholischen Lauge zurückzudrängen - und nun durch öfteres (etwa 5-mal) Ausschütteln mit Äther und Trennen im Scheidetrichter alles Unverseifbare abgetrennt. Hierbei ging auch das bei der Bestimmung der Verseifungszahl als Indikator verwendete Phenolphthalein in den Äther, was die Reindarstellung der Fettsäure wesentlich erleichterte. Nachdem auf diese Weise das Unverseifbare entfernt war, wurde die Fettsäure aus der Seife mittels verdünnter Schwefelsäure in Freiheit gesetzt, unter Anwendung von Äther als Lösungsmittel im Scheidetrichter ausgeschüttelt, der Äther verdunstet und der Schmelzpunkt des Rückstandes bestimmt. Er lag bei etwa 61° und deutete somit auf Palmitinsäure hin, deren Schmelzpunkt zu 62,6° [1] angegeben wird. Schon nach wenigen Umkrystallisierungen aus Äther, wobei die Ausfällung durch Zugabe von Alkohol und Wasser erreicht wurde, stieg der Schmelzpunkt auf 62,5° , der sich auch bei zweimaliger Wiederholung nicht mehr änderte. Dieser Wert stimmt mit dem in der Literatur für Palmitinsäure angegebenen so genau überein, dass daraus allein schon diese Frage ziemlich eindeutig geklärt sein dürfte. Die anfänglich in den Bereich der Möglichkeit gezogene Stearinsäure kam nicht mehr in Frage, da deren Schmelzpunkt mit 72° viel zu hoch liegen würde. Trotzdem wurde vor einer endgültigen Entschei-

---

1) A.Grün, loc.cit., S.112.

dung noch die Neutralisationszahl bestimmt und daraus das Molekulargewicht errechnet. Erstere ergab sich im Mittel zu 216,9 , letzteres zu 258,6 . Diese Kennzahlen stehen mit den theoretischen Werten für Palmitinsäure (Neutralisationszahl 218,92; Mol.Gew. 256,25) in sehr guter Übereinstimmung.

1) 0,0263 g Subst. verbr. 5,650 mg KOH; Neutr.-Z. = 214,8.
2) 0,0830 g Subst. verbr.18,18 mg KOH; Neutr.-Z. = 219,0.

Um die Identität des Präparates noch weiterhin zu erhärten, wurde der Schmelzpunkt eines Gemisches desselben mit reiner Palmitinsäure ermittelt. Bei dieser Mischprobe trat eine Schmelzpunktsdepression nicht ein, womit die abgetrennte Fettsäure endgültig als Palmitinsäure festgelegt ist.

3. Abscheidung und Ermittlung der am Aufbau beteiligten alkoholischen Komponente. Auf Grund der bisherigen Ergebnisse war, wie schon erwähnt, hinsichtlich der Art des abgeschiedenen Esters mit dem Vorliegen von Sitosterin-Palmitat zu rechnen. Der weiter einzuschlagende Weg für die Isolierung und Kennzeichnung der an die Fettsäure gebundenen alkoholischen Komponente war damit gewiesen. Das vor der Gewinnung der Fettsäure abgeschiedene Unverseifbare war, wie schon erwähnt, durch das bei der Bestimmung der Verseifungszahl als Indikator verwendete Phenolphthalein verunreinigt, so dass bei weiterer

Behandlung immer wieder Färbung auftrat. Um diese Unannehmlichkeit zu umgehen, wurde eine erneute Verseifung des reinen Esters (etwa 1 g) vorgenommen und die Extraktion des Unverseifbaren nach M.Hönig und G.Spitz [1] in der verfeinerten Ausführungsform von H.Schicht und K.Halpern [1] durchgeführt. Nach Verdunstung des als Solvens verwendeten Petroläthers (Sdp. 52-56°) blieb eine eigentümlich schwammige, lockere Masse zurück, die in ihren Eigenschaften grosse Ähnlichkeit mit einem von O.Hesse [2] schon im Jahre 1878 aus Kalabarbohnen isolierten und von ihm „Cholesterin" genannten Präparate aufwies [3]. Sie bestand aus weissen Blättchen, die sich in heissem Alkohol lösten, dann beim Erkalten wieder ausschieden, dabei aber immer so viel Feuchtigkeit festhielten, dass deren vollständige Entfernung erst nach 16-stündigem Trocknen im Vakuum-Exsikkator erreicht wurde. Die durchsichtigen, celluloidartig glänzenden Blättchen hafteten an den Wandungen der Glasschale ziemlich fest an. Sie wurden mittels eines Nickelspatels abgekratzt. Der Schmelzpunkt lag bei 133,5°, bewegte sich also innerhalb des in der Literatur für Sitosterin angegebenen Intervals von 131,0 - 137,5 [4]. Es wurde eine weitergehende Reinigung durch Umkrystallisieren versucht

---

1) A.Grün, loc.cit., S.204.
2) Liebigs Ann. 192, 175 (1878).
3) Dem heutigen Sprachgebrauch entsprechend ist hier für „Cholesterin" der Sammelname „Phytosterin" zu setzen.
4) A.Windhagen, Ztschr.physiol.Chem. 100, 159 (1917). R.J.Anderson, cit. nach Chem.Umschau Fette, Öle, Wachse, Harze 31, 83 (1924).

Zu diesem Zwecke wurde die Substanz in heissem Alkohol gelöst und dann durch Zugabe von wenig kaltem Wasser wieder zur Abscheidung gebracht. Trotz dreimaliger Wiederholung dieser Operation gelang es nicht, dabei den Schmelzpunkt zu erhöhen. Infolgedessen wurde versucht, die Art des vorliegenden Sterins durch sein Acetat aufzuklären.

Die Acetylierung erfolgte in der Weise, dass die Substanz mit Essigsäure-Anhydrid erhitzt, das überschüssige Anhydrid abgedampft und der Rückstand aus Alkohol umkrystallisiert [1] wurde. Der nach dem Trocknen des Acetats bestimmte Schmelzpunkt lag bei 126,2° und stimmte somit ziemlich gut mit dem in der Literatur für Sitosterin-Acetat angeführten überein. In Ubbelode's Handbuch [2] wird er zu 127° angegeben.

Die vorher festgestellte Abweichung des Schmelzpunktes des isolierten Sterins von demjenigen des Sitosterins legte den Verdacht nahe, dass das abgeschiedene Produkt vielleicht durch irgend einen schwer abtrennbaren Begleitstoff verunreinigt ist. Die Angleichung des Schmelzpunktes des dargestellten Acetates an denjenigen des Sitosterin-Acetates liess vermuten, dass durch die Operation des Acetylierens eine Reinigung erfolgt ist. Infolgedessen wurde das Acetat abermals verseift und das Sterin isoliert. Sein Schmelzpunkt wurde wider Erwarten etwa unverändert zu 133,0° ermittelt. Dieser den vorher erwähnten Ergebnissen widersprechende Befund gab

---

1) nach A.Grün, loc.cit., S.265.

2) Ubbelode's Handbuch der Chemie und Technologie der Öle und Fette, herausgegeben von Dr.Hans Heller, 1929, 2.Auflage, Bd.1, S.152. Verlag S.Hirzel, Leipzig.

Anlass zu einigen weiteren nachstehend durchgeführten Erörterungen und Untersuchungen.

Bevor darauf eingegangen wird, sei hier noch erwähnt, dass nach Abschluss der eben beschriebenen Versuche bei einer erneuten Wiederholung der Reinigung des aus dem reinen Palmitat abgeschiedenen Sterins, dessen Schmelzpunkt zu 137,4° gefunden wurde, also in guter Übereinstimmung mit den höchsten Angaben des Schrifttums für Sitosterin. Bei dieser Reinigung wurde von relativ grossen Mengen (etwa 0,5 g) des schon gereinigten Palmitates ausgegangen, dasselbe vollständig verseift und das mit Petroläther extrahierte Sterin wiederholt aus 96 proz. Alkohol umkrystallisiert. Auf den vorher angewandten Zusatz von Wasser zur Begünstigung der Fällung wurde verzichtet. Es musste ein erheblicher Substanzverlust infolgedessen mit in Kauf genommen werden. Nach viermaliger Umkrystallisierung, wobei grösster Wert auf die Entstehung gut ausgebildeter Krystalle gelegt wurde, zeigte das Produkt einen Schmelzpunkt von 136,5°. Nach dem Erstarren der Schmelze lag der Schmelzpunkt bei der Wiederholung des Erhitzens bei 137,2 - 137,4°. Es scheint somit, dass durch das Weglassen des Wassers bei der Umfällung des Sterins aus Alkohol die vorher so hartnäckig zurückbleibende unbekannte Begleitsubstanz wenigstens teilweise abgetrennt worden ist.

Das Sitosterin ist bekanntlich das verbreitetste Phytosterin und übernimmt in der Pflanzenwelt wahrscheinlich die analogen Funktionen, wie sie dem Cholesterin in der Tierwelt zugeordnet sind. Aus Untersuchungen von R.Schönheimer, H.v.Behring, R.Hummel und L.Schindel [1] geht hervor, dass das

1) Ztschr.physiol.Chem. 192, 73 (1930).

einfach ungesättigte Cholesterin im tierischen und menschlichen Organismus immer mit gesättigten Sterinen vergesellschaftet vorkommt. R.J.Anderson und seine Mitarbeiter [1] stellten weiterhin in umfassenden Arbeiten fest, dass das bisher für einheitlich gehaltene einfach ungesättigte Sitosterin nicht nur ein Gemisch von mehreren optischen Isomeren ist, sondern dass es darüber hinaus in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der oben genannten vier Forscher meist auch erhebliche Mengen von gesättigtem Dihydro-Sitosterin enthält. Die allgemeine Auffassung geht heute dahin, dass scheinbar allgemein sämtliche Phytosterine, analog wie das Cholesterin, Gemische mit gesättigten Sterinen darstellen. Nach R.Schönheimer und Mitarbeitern dürfte sogar der Gesamtgehalt der Sterine an gesättigten Bestandteilen bei der Pflanze grösser sein als beim Tier.

Diese Umstände machen es erklärlich, dass die Angaben über den Schmelzpunkt des Sitosterins in der Literatur bisweilen recht erheblich voneinander abweichen; sie schwanken etwa zwischen 131° [2] bis 137,5° [3], was sich zwanglos aus den möglicherweise wechselnden Mischungsverhältnissen der gesättigten und der ungesättigten Komponente erklären lässt.

---

1) R.J.Anderson, Journ.Amer.chem.Soc. 46, 1450 (1924); R.J.Anderson, F.P.Mahenhauer, R.L.Shriner, Journ.biol. Chem. 71, 389 (1927); R.J.Anderson u. R.L.Shriner, Journ. biol.Chem. 71, 401 (1927); Journ.Amer.chem.Soc. 48, 2976 (1926); R.J.Anderson, R.L.Shriner u.Burr, Journ.Amer.chem. Soc. 48, 2897 (1926); F.P.Mahenbauer u.R.J.Anderson, Journ.Amer.chem.Soc. 48, 2972 (1926).

2) A.B.Weinhagen, Ztschr.physiol.Chem. 100, 159 (1917)

3) R.J.Anderson u.M.G.Moore, Chem.Umschau Fette, Öle, se, Harze 31, 83 (1924).

Es wurde zunächst der Versuch gemacht, durch Ermittlung der Jodzahl einen allgemeinen Einblick in die Art und das Verhalten des isolierten Sterins zu erlangen. Da für die Untersuchung nur beschränkte Mengen der Substanz zur Verfügung standen, mussten die Jodzahlbestimmungen am Sterin-Palmitat ausgeführt werden.

Das gewöhnliche Sitosterin stellt bekanntlich einen einfach ungesättigten cyklischen Alkohol dar, dessen ungesättigter Charakter, wie üblich, durch die Jodzahl zahlenmässig festgelegt werden kann. Da die Säurekomponente des vorliegenden Sterides als Palmitinsäure eindeutig bestimmt war, konnte sich eine einigermaßen nennenswerte Jodzahl nur aus der alkoholischen Komponente ergeben.

Erfahrungsgemäss besitzen die ungesättigten Verbindungen die Eigenschaft, durch Anlagerung von Halogen an die Lückenbindung in die entsprechenden Additionsverbindungen überzugehen. Hierbei können sich die einzelnen Äthylenbindungen je nach ihrer Lage in der Molekel (sterische Beeinflussung) recht verschieden verhalten. Auf diese Weise wird eine selektive Absättigung möglich, die man bewusst heranzieht, um durch diese Differenzierung der Lückenbindungen eine weitgehende analytische Auswertung der Ergebnisse zu erzielen (Rhodanzahl, partielle Jodzahl) [1]. Zu berücksichtigen ist aber bei solchen Halogenanlagerungs-Versuchen, dass dabei gleichzeitig eine geringe Substitution einzutreten pflegt. Auf diese Weise ist diese Operation meist mit einem mehr oder

---

1) Vgl. dazu H.P.Kaufmann, Ztschr.Unters.Lebensmittel 51, 15 (1926).

weniger grossen Fehler verknüpft, dessen Ausschaltung oder wenigstens Berücksichtigung zu bedenken ist. Von den gebräuchlichen drei Halogenen wirkt das Chlor so energisch, dass neben der Anlagerung fast regelmässig auch eine weitgehende Substitution erfolgt. Dadurch wird es für die Bestimmung des ungesättigten Charakters ungeeignet. Brom und Jod bzw. ihre Verbindung miteinander reagieren unter entsprechenden Versuchsbedingungen fast ausschliesslich im Sinne der Anlagerung; sie sind es daher, die in der Fettchemie bei der Ermittlung des Grades des ungesättigten Charakters vor allem benützt werden.

Über die Auswertung der Jodzahl bei den Sterinen liegen verschiedene Untersuchungen vor. Eingehende Versuche nach dieser Richtung wurden von H.Dam [1] mit Cholesterin durchgeführt. Er verglich die nach den bekannten Verfahren von A.v.Hübl, Waller, J.J.A.Wijs, J.Hanus und L.W.Winkler sowie das Pyridinsulfat-dibromidverfahren nach K.W.Rosenmund und W.Kuhnhenn [2] und kam dabei zu folgenden Resultaten. Während die drei ersten Verfahren bei grossem Halogenüberschuss ein verhältnismässig starkes Anwachsen der Jodzahl mit der Reaktionszeit an den Tag legten, hatten die Verfahren nach den letztgenannten Autoren bei angemessenem Halogenüberschuss auffallend günstige Ergebnisse, die den theoretischen Zahlen sehr nahe kamen. F.Reindel und K.Niederländer [3] untersuchten ebenfalls die Halogenanlagerung bei Sterinen, indem sie durch Messung der dabei auftretenden Säure einen Rückschluss auf den

---

1) Biochem.Ztschr. 152, 101 (1924).
2) Ztschr. Unters.d.Lebensmittel 46, 154 (1923).
3) Liebigs Ann. 475, 147 (1929).

Grad der Substitution zogen. Die Autoren fanden in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Untersuchungen von H.Dam [1], dass das Pyridinsulfat-dibrom-Verfahren sehr geeignet erscheint; die Substitution macht bei richtiger Reaktionszeit und bei geeignetem Halogenüberschuss relativ geringe Fortschritte.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde die L.W.Winkler'sche Brommethode in der Ausführung des Deutschen Arzneibuches VI angewandt. Maßgebend dafür war, dass dieses Verfahren auf Grund der Versuche von H.Dam befriedigende Ergebnisse zeitigt. Hinzu kam, dass über diese für die Zwecke der praktischen Lebensmittelkontrolle amtlich eingeführte Methode eigene experimentelle Erfahrungen vorhanden waren. H.Dam verwendete, wie schon erwähnt, für seine Untersuchungen Cholesterin, dessen hinsichtlich des Aufbaues grosse Ähnlichkeit mit dem Sitosterin zu der Annahme berechtigte, dass auch bei letzterer Substanz unter gleichen Versuchsbedingungen die Ergebnisse der Halogenanlagerung gleich günstig sein würden. Als Reaktionszeit wurde eine solche von 60 Minuten, als Halogenüberschuss ein solcher von etwa 45 % gewählt, die sich bei den angestellten Nachprüfungen als günstig erwiesen hatten. Für die Bromierung wurde, wie schon angegeben, statt des freien Sitosterins das in grösseren Mengen vorhandene Sitosterin-Palmitat verwendet. Da die Säurekomponente desselben (Palmitinsäure) als eine gesättigte Verbindung kein Halogen anlagert und auch eine Substitution kaum zu befürchten ist, musste der Bromverbrauch ausschliesslich zu Lasten der Lückenbindung des

---

1) loc.cit.

Sterins gehen. Als Jodzahl (aus dem Bromverbrauch berechnet) wurde als Mittel aus drei Versuchen J.Z. = 42,23 gefunden.

0,6746 g Subst.verbr. 22,02 ccm n/10 $KBrO_3$; J.Z. = 41,42.
0,2346 g " " 7,81 ccm n/10 $KBrO_3$; J.Z. = 42,24.
0,1294 g " " 4,39 ccm n/10 $KBrO_3$; J.Z. = 43,05.

Rechnet man diesen Wert auf das freie Sterin um, so kommt man auf 68,26 . Diese Jodzahl liegt, wie ja wegen der unvermeidlichen geringen Substitution nicht anders zu erwarten war, etwas über dem nach der Theorie (63,68) zu fordernden Werte. H.Dam [1] erhielt unter ähnlichen Voraussetzungen bei einer Einwirkungszeit von 1 Stunde und einem Halogenüberschuss von ca. 43 % mit der Bromatmethode nach L.W.Winkler für Cholesterin eine Jodzahl von 68,7 . Leider waren keine ausreichend grossen Mengen von Untersuchungsmaterial vorhanden, um bei den vorliegenden Versuchen den Grad der Substitution zu ermitteln und von der gefundenen Jodzahl in Abzug zu bringen. Dass eine Substitution eingetreten ist, dürfte sicher sein. Es liegen sogar gewisse Anhaltspunkte dafür vor, dass der durch Substitution eingetretene Bromverbrauch so viel ausmacht, dass bei seiner Berücksichtigung die experimentell gefundene Jodzahl unter den theoretischen Wert von 65,68 gesunken wäre.

Es erschien nicht unwahrscheinlich, dass das Unverseifbare aus dem Malz- und Treberfett mit dem in analoger Weise aus dem Gerstenfett abgeschiedenen festen Produkt chemisch identisch sei. Um diese Annahme zu erhärten, wurde zunächst

---

1) loc.cit.

die Sterinprobe nach Hager-Salkowski durchgeführt. Sie verlief in beiden Fällen positiv. Nach wiederholter Reinigung in gleicher Weise wie es bei dem Sterin aus dem Gerstenfett geschehen war, wurde schliesslich bei beiden Präparaten ein Schmelzpunkt von 88 - 88,5° erreicht, der bei fortgesetzter Fraktionierung sich nicht mehr änderte. Nachdem noch beim langsamen Auskrystallisieren aus einem Petroläther-Alkohol-gemisch im Verhältnis von 1:2 Krystalle erhalten worden waren, die sich mit denjenigen des Sterinpalmitates aus dem Gerstenfett als identisch erwiesen, wurde das Vorliegen von Sterinpalmitat im Unverseifbaren von Malz- und Treberfett als gesichert angesehen.

4. Zerlegung des abgeschiedenen Sterins in einen gesättigten und einen ungesättigten Anteil. R.Schönheimer [1] und Mitarbeiter konnten, wie schon erwähnt, den Befund von R.J.Anderson [2] bestätigen, dass jene Verbindung, die man bisher als Sitosterin angesprochen hat, ganz allgemein immer erhebliche Mengen eines gesättigten Anteils (Dihydrositosterin) enthält. Nach den Angaben dieser Autoren beträgt dieser Gehalt beim Sitosterin bis zu etwa 10 %, bei anderen Sterinen pflanzlicher Herkunft [gewonnen aus Kalabarbohnen, Erbsen, Reis, Kaninchennahrung (Heu und Rüben)] steigt der Prozentgehalt an gesättigter Komponente bis auf rund 26 % an. Um mit Aussicht auf Erfolg eine Trennung in gesättigte und ungesättigte Komponente bei den vorliegenden Präparaten von Sitosterin durchführen zu können, waren entsprechend grosse Mengen von Ausgangsmaterial notwendig. Es wurde darum das gesamte aus den Fetten von Gerste, Malz und Trebern gewonnene rohe Un-

1) Ztschr.physiol.Chem. 192, 96 (1930).
2) loc.cit.

verseifbare, einschliesslich des rein dargestellten Sitosterin-Palmitates, vereinigt (ca. 40 g) und durch 3 Stunden langes Sieden mit ½ n alkoholischer Kalilauge (im Überschuss) verseift. Nach erfolgter Verdünnung der Seifenlösung mit Wasser auf das 20-fache des Volumens wurde dreimal mit Petroläther (Sdp. 52-56°) extrahiert, das Lösungsmittel verdampft und die gesamte Menge des auf diese Weise gewonnenen Unverseifbaren vereinigt. Es ergaben sich insgesamt 3,33 g Rohprodukt von ziemlich heller Farbe und relativ weicher Konsistenz. Erst durch wiederholtes Umkrystallisieren (etwa 8-mal) aus Alkohol, wobei zum Zwecke des Ausfällens jedesmal Wasser zugesetzt wurde, gelang es, ein weisses Produkt mit einem Schmelzpunkt von 129,5° zu gewinnen. Da zu befürchten war, dass bei weiterer Fraktionierung möglicherweise auch das zu isolierende Dihydro-sitosterin abgetrennt würde, wurde mit diesem Material, von dem noch 328,5 mg vorhanden waren, die Untersuchung durchgeführt.

Das von R.Schönheimer [1] zur Abscheidung der gesättigten Komponente des Sitosterins angewandte Verfahren, das auch im vorliegenden Falle Richtung gebend war, beruht auf folgender experimenteller Beobachtung. Das durch Anlagerung von Brom an das gewöhnliche einfach ungesättigte Sitosterin gebildete Dibrom-sitosterin ist mit Digitonin nicht fällbar, während der gesättigte Anteil, wofür nach dem Vorgange von R.Schönheimer die Bezeichnung Dihydro-sitosterin gebraucht werden soll, kein Brom aufnimmt und deshalb mit Digitonin gefällt werden kann. Gemäss der von obigen Autoren angege-

1) loc.cit.

benen Methode wurde das vorhandene Material in der 120-fachen Menge von 1ei em 96 %igen Alkohol gelöst und sofort in Eis abgekühlt. Darauf wurde aus einer Bürette unter ständigem Schütteln der Lösung solange etwa normale alkoholische Bromlösung zugegeben, bis schwache Braungelbfärbung auftrat. Nach 2-stündigem Stehen wurde Digitonin im Überschuss zugegeben und das Reaktionsgemisch im Dunkeln aufbewahrt. Da schon nach 18 Stunden Entfärbung der Bromlösung eingetreten war, wurde erneut, bis zur Gelbfärbung, brom zugegeben. Nach weiteren 24 Stunden war die Lösung abermals farblos geworden, und es wurde nochmals Brom zugegeben, bis Färbung eintrat. Nachdem die Lösung noch weitere 48 Stunden im Dunkeln gestanden hatte, wurde der ausgefallene, weisse, flockige Niederschlag abfiltriert und mit kaltem Alkohol und Äther in einem Mischungsverhältnis von 1:3 gewaschen. Nach erfolgter Trocknung im Heizschrank bei 100° ergab sich ein Gewicht von 59,2 mg für das Digitonid, was einem Gehalt an freiem Dihydro-sitosterin von 14,48 mg entspricht. Durch Kochen mit Xylol wurde die Verbindung in ihre beiden Komponenten zerlegt. Das durch diese Operation in Freiheit gesetzte (aus der Xylollösung abgeschiedene) Dihydro-sitosterin zeigte einen Schmelzpunkt von 133,0° (unkorr.), während sich für das freie, in Xylol nicht lösliche Digitonin ein solcher von 218° ergab (Smp. des angewandten käuflichen Digitonins 225°). Das aus dem Digitonid wieder abgeschiedene Digitonin dürfte nicht ganz rein sein; diese Beobachtung steht im Einklange mit den Feststellungen von

R.Schönheimer. Dieser Autor gibt als Schmelzpunkt des isolierten Dihydro-sitosterins 135° an. Die Abweichung davon gab Veranlassung, eine Reinigung einmal durch Umkrystallisieren aus Alkohol, dann durch Erhitzen mit Tierkohle durchzuführen. Beide Operationen hatten jedoch keinen Erfolg. Hierbei muss allerdings in Betracht gezogen werden, dass nur sehr geringe Mengen an Substanz zur Verfügung standen, und dass deshalb eine weitgehende Fraktionierung des Produktes nicht möglich war. Im vorliegenden Falle betrug, berechnet aus dem Digitonid, die prozentuale Ausbeute an dem oben beschriebenen Dihydro-sitosterin 4,4 %. Hierzu ist zu bemerken, dass es sich dabei nicht um eine quantitative Bestimmung, sondern lediglich um eine mengenmässige Orientierung gehandelt hat. Es sind sicherlich Verluste eingetreten, so dass die eben angegebene Ausbeute von 4,4 % lediglich einen Mindestwert darstellt, der in Wirklichkeit bedeutend höher sein dürfte.

Zusammenfassend hat sich bei den erwähnten Arbeiten gezeigt, dass auch in der sogenannten Sitosterin-Komponente des Unverseifbaren der Hefte von Gerste, Malz und Trebern ein gesättigtes Sterin vorhanden ist. Es lässt sich nach vorsichtiger Bromierung mit Digitonin zur Fällung bringen. Der negative Ausfall der Reaktion nach Hager-Salkowski weist in Analogie zum Verhalten beim Bromieren ebenfalls auf den gesättigten Charakter hin. Der Unterschied in den Schmelzpunkten (133° statt 135°) dürfte auf Verunreinigung zurückzuführen sein, deren Abtrennung wegen Mangels an Material leider nicht möglich war.

Was die Art der hier isolierten gesättigten Komponente anlangt, so liegen die Verhältnisse noch reichlich ungeklärt. R.J.Anderson und R.L.Shriner [1] stellten aus Maisöl ein Dihydro-sitosterin dar mit dem Schmelzpunkt 143-144° korr. Ebenso isolierten F.P.Nahenbauer und R.J.Anderson [2] aus Reiskleie ein Dihydro-sitosterin mit dem Schmelzpunkt 144-145°. Der von R.Schönheimer und Mitarbeitern gefundene Wert von 135° [3], der bei den vorliegenden Untersuchungen eine Bestätigung findet, steht damit in Widerspruch. Es ist hier nicht Zeit und Gelegenheit, diesen Differenzen weiter nachzugehen. Wahrscheinlich aber dürfte die Sachlage die sein, dass das Dihydrositosterin nach R.J.Anderson und das nach R.Schönheimer verschiedene Stoffe darstellen.

---

1) cit. nach Chem.Ztrbl. 98, 615 (1927).

2) cit. nach Chem. Umschau Fette, Öle, Wachse, Harze 34, 97 (1927).

3) Es erscheint auffällig, dass der Schmelzpunkt des gefundenen Dihydro-sitosterins von 135° niedriger liegen, bzw. etwa ähnlich demjenigen des einfach ungesättigten Sitosterins sein soll.

III. Über die Glyzeride von Gersten-, Malz- und Treberfett.

1. Allgemeines.

Die in der oben beschriebenen Weise von den ausgeschiedenen festen Bestandteilen befreiten Fette von Gerste, Malz und Trebern wurden zur Untersuchung auf die darin präformierten Glyzeride verwendet. Hierüber liegen unseres Wissens in der Literatur noch keine Angaben vor. In den analytischen Arbeiten von M.Rusch [1] werden zwar die am Aufbau beteiligten Fettsäuren nach Art und Menge bestimmt, Schlüsse auf den Bau der einzelnen Glyzerid-Moleküle aber lassen sich aus diesen Angaben nicht ziehen. Eine Aufklärung darüber erscheint umso wünschenswerter, als gerade durch Festlegung der vorgebildeten Glyzeride und durch Ermittlung möglicher Unterschiede zwischen Gersten-, Malz- und Treberfett die biologisch interessanten Fragen nach den Vorgängen des Fett-Stoffwechsels beim Auskeimen der Gerste angeschnitten und einer theoretischen Betrachtung zugeführt werden könnten.

Als Grundlage für die auszuführenden Untersuchungen wurden die Analysenergebnisse von M.Rusch verwendet, welche folgende Werte aufweisen.

---

1) loc.cit.

Tabelle 2.

Zusammensetzung der Fettsäuren von Gersten-, Malz- und Treberfett [1].

	Gerstenfett	Malzfett	Treberfett
Ölsäure %	32,8	20,5	24,0
Linolsäure %	54,3	61,8	55,1
Linolensäure %	0,54	1,03	0,58
Palmitinsäure %	9,1	10,2	9,5
Stearinsäure %	3,3	6,4	10,9

Addiert man die in der obigen Tabelle 2 niedergelegten prozentualen Werte, so ergibt sich bei den drei Fetten jedesmal fast genau 100. Dies kann als mittelbarer Beweis dafür gelten, dass die Beteiligung einer weiteren Fettsäure am Aufbau dieser Fette nicht in Betracht kommt. Naturgemäss ist mit der Feststellung der Zahl der Fettsäuren auch diejenige der möglichen Glyzeride bestimmt. Hierfür kommt eine sehr grosse Mannigfaltigkeit in Betracht. Schon dadurch nämlich, dass theoretisch von jeder der fünf gefundenen Säuren Mono-, Di- und Triglyzeride möglich sind, ergibt sich eine überaus grosse Zahl von Isomeren. Diese wird durch die Möglichkeit der Bildung von gemischtsäurigen Glyzeriden noch auf ein Vielfaches erhöht. Sieht man von den möglichen optischen Isomeren ab, so berechnet sich nach der von Hahn [2]

1) Diss. München, Universität 1928, S.67, Tabelle 21.
2) Diss. Leipzig 1904.

aufgestellten Formel die Zahl der isomeren Glyzeride bei Beteiligung von fünf Fettsäuren auf 320.

Diese theoretisch mögliche, überaus grosse Anzahl von Glyzeriden reduziert sich nach allgemeiner empirischer Erfahrung bei den verschiedenen natürlichen Fetten auf einen Bruchteil. Abgesehen davon, dass in den Naturprodukten Mono- und Diglyzeride relativ selten sind, wahrscheinlich unter normalen Bedingungen überhaupt nicht vorkommen, ist darüber hinaus auch nicht anzunehmen, dass alle möglichen Isomeren nebeneinander auftreten. Hinzu kommt, dass der geringe Anteil, der bei den vorliegenden drei Fetten auf die Linolensäure entfällt, den Schluss zulässt, dass dieselbe für die Glyzeridbildung eine verhältnismässig untergeordnete Bedeutung hat.

Die Erkennung und Identifizierung der am Aufbau beteiligten Glyzeride setzt die Abscheidung derselben im reinen Zustande voraus. Hierfür kommen hauptsächlich die folgenden sechs Methoden in Betracht.

a) Fraktionierte Destillation im Vakuum nach E.Krafft [1]. Diese Methode haben A.Bömer und J.Baumann [2] angewendet, um aus dem Kokosfett einheitliche Glyzeride zu erhalten. Eine allgemeine Anwendbarkeit dieser Methode ist jedoch ausgeschlossen, da bei der Destillation von Glyzeriden mit höheren Fettsäuren - von 15 Kohlenstoff-Atomen an aufwärts - auch bei hohem Vakuum Zersetzung zu befürchten ist.

---

1) Ber.Dtsch.chem.Ges. 28, 2583 (1895); 29, 1316, 2240 (1896); 32, 1623 (1899).

2) Ztschr.Unters.Lebensmittel 40, 97 (1920).

b) Fraktionierte Krystallisation [1]. Diese Methode beschränkt sich hauptsächlich auf Fette, also solche Produkte, die bei gewöhnlicher Temperatur fest sind. Die in einem geeigneten Solvens eventuell durch Erwärmen gelöste Substanz wird durch langsames Abkühlen oder durch Verringerung des Lösungsvermögens des Lösungsmittels (z.B. durch Zugabe eines anderen Stoffes) zum teilweisen Auskrystallisieren gebracht. Das Verfahren wird solange wiederholt, bis der Schmelzpunkt der auskrystallisierten Substanz mit demjenigen des aus der Mutterlauge gewonnenen Produktes übereinstimmt. Gemäss Duffy [2] kann dann angenommen werden, dass ein einheitliches Glyzerid vorliegt. Nach dieser Methode wurde in der vorliegenden Arbeit bei der früher beschriebenen Abscheidung des Sitosterin-Palmitates gearbeitet. Bei Fetten, welche bei Zimmertemperatur flüssig sind, kann durch Ausfrierenlassen bei tiefer Temperatur [3] die Substanz einer fraktionierten Krystallisation unterworfen werden. Man gewinnt die einzelnen Fraktionen am besten durch Filtrieren im Kältetrichter oder durch Zentrifugieren.

c) Fraktionierung aus acetonischer Lösung. C.Amberger und A.Wiesehahn [4] haben beobachtet, dass sich bei entsprechenden Mengenverhältnissen die Acetonlösung eines Fettes, besonders bei einer Temperatur von etwa 0°, in zwei Schichten trennt,

---

1) A.Bömer, Ztschr.Unters.Lebensmittel 40, 97 (1920).
2) A.Grün, loc.cit., S.255.
3) D.Holde u.M.Stange, Ber.Dtsch.chem.Ges. 34, 2402 (1901).
4) Ztschr.Unters.Lebensmittel 46, 276 (1923).

deren obere, acetonreichere die stärker ungesättigten Glyzeride enthält. Durch Wiederholung dieser Umlösung erreicht man schliesslich einen Punkt, wo die Glyzeride in beiden Schichten gleiche Jodzahlen haben. Es ist dann anzunehmen, dass die Glyzeride einheitlich sind; sie können auch nach entsprechender Reinigung identifiziert werden.

d) Fraktionierte Krystallisation nach Hydrierung der Fette [1]. Es ist bekanntlich möglich, flüssige Fette, d.h. solche mit Glyzeriden von vorwiegend ungesättigten Fettsäuren, durch Anlagerung von Wasserstoff in den festen Zustand zu überführen. Diese gehärteten Produkte können ebenso wie die natürlichen festen Fette einer fraktionierten Krystallisation unterworfen werden. Wenn Art und Menge der ungesättigten Fettsäuren bekannt sind, lassen sich Schlüsse in qualitativer und quantitativer Beziehung auf die ursprünglich vorgebildeten Glyzeride ziehen.

e) Abscheidung von Glyzeriden durch Bromierung. Mit dieser Methode haben A.Eibner und K.Schmidinger [2] die Aufklärung der Konstitution des Leinöls mit gutem Erfolg durchgeführt; K.Täufel und Cl.Bauschinger [3] verwendeten dieses Verfahren bei der Untersuchung des Rüböls. Die Methode beruht darauf, dass die stärker ungesättigten Glyzeride (mit Linol- und Linolensäure), ebenso wie die mehrfach ungesättigten Fettsäuren

---

1) C.Amberger, Ztschr.Unters.Lebensmittel 40, 192 (1920).
2) Chem.Umschau Fette, Öle, Wachse, Harze 30, 293 (1923).
3) Ztschr.Unters.Lebensmittel 56, 266 (1928).

im freien Zustande, unter bestimmten Versuchsbdingungen bei Einwirkung von Brom schwer lösliche Bromverbindungen, hier Bromglyzeride bilden. Dieselben lassen sich abfiltrieren und können dann nach Reinigung auf ihre Konstitution untersucht werden.

f) Abscheidung von Glyzeriden durch Isomerisierung (Elaidinierung). Es ist bekannt, dass durch gewisse Agentien (salpetrige Säure, schweflige Säure usw.) die Öl- und Erukasäure elaidiniert werden können. G.Tomow [1] hat diese Methode auf die ölsäurehaltigen Glyzeride erfolgreich angewendet. Die nach diesem Verfahren abgeschiedenen festen Glyzeride können durch Umkrystallisieren gereinigt und hernach identifiziert werden.

g) Abscheidung von Glyzeriden durch Hydroxylierung. Zur Identifizierung ungesättigter Fettsäuren ist bekanntlich von K.Hazura [2] die Methode der vorsichtigen Oxydation (Anlagerung von Hydroxyl an die Doppelbindung) ausgebaut worden. Die dabei entstehenden mehrfach hydroxylierten Fettsäuren besitzen im Gegensatz zu den ungesättigten, meist flüssigen Fettsäuren einen höheren Schmelzpunkt; ausserdem treten gewisse Unterschiede in der Löslichkeit in den verschiedenen Fettlösungsmitteln auf. Dies gibt die Möglichkeit, Gemische derartiger mehrfach hydroxylierter Fettsäuren in die Bestandteile zu zerlegen und letztere insbesondere durch den Schmelzpunkt zu charakterisieren.

---

1) Diss. München, Techn.Hochschule 1914.

2) A.Grün, Analyse der Fette und Wachse. Bd.1, S.237. Verlag J.Springer Berlin 1925.

Die Übertragung eines solchen Arbeitsverfahrens auf die Abscheidung einheitlicher Glyzeride verdankt man T.P.Hilditch und C.H.Lea [1]. Grundlegende Voraussetzung dafür ist, dass bei einer solchen Methode weder eine wesentliche Verseifung der Glyzeride erfolgt, noch eine in Betracht kommende Aufspaltung derselben an den Stellen der Lückenbindung sich vollzieht.

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Abscheidung einheitlicher Glyzeride von Gerste, Malz und Trebern die unter e) und f) genannten Methoden angewendet. Von der unter a) aufgeführten fraktionierten Destillation im Vakuum wurde Abstand genommen, da bei dem vorliegenden Untersuchungsmaterial ausschliesslich Glyzeride mit höheren Fettsäuren, d.h. mit 16 und mit 18 Kohlenstoffatomen, in Betracht kommen. Die Fraktionierung aus acetonischer Lösung setzt grössere Mengen an Untersuchungsmaterial voraus, das im vorliegenden Falle nicht vorhanden war. Die fraktionierte Krystallisation der Öle wurde bei erniedrigter Temperatur unter Verwendung verschiedener Lösungsmittel mehrfach versucht, die Ergebnisse waren aber wenig befriedigend. Beim vorsichtigen Abkühlen schieden sich zunächst kleine Anteile einer festen Substanz aus, die sich bei der Untersuchung als Sitosterin-Palmitat erwiesen. Beim weiteren Abkühlen der Lösung der Fette erfolgte, ohne dass charakteristische Abscheidungen eintraten, ein allmähliches Dickwerden. Obwohl die Methode der fraktionierten Krystallisation nach Hydrierung eine Abscheidung einheitlicher Glyzeride erwarten liess,

---

1) Journ.chem.Soc. London 1927, 2, S.3114.

wurde sie nicht angewendet, da wegen der gleichzeitigen Anwesenheit von Öl-, Linol- und Linolensäure die Schlüsse von den isolierten gesättigten Glyzeriden auf die im Fett ursprünglich vorgebildeten nicht eindeutig gewesen wären. Was schliesslich das Verfahren nach T.P.Hilditch und C.H.Lea[1] anlangt, so schreiben die Autoren selbst, dass bei dieser Methode, wenn sie bei 40-50° in verdünnter Essigsäure durch geführt wird, die Reaktion so langsam verläuft, dass sie auch nach mehreren Tagen nicht zu Ende geführt ist. Arbeitet man zur Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit in Eisessiglösung bei höherer Temperatur, dann tritt, abgesehen von einer geringen, wenig in Betracht kommenden Verseifung, als störendes Moment die an den gebildeten Hydroxylgruppen der ungesättigten Fettsäuren im Glyzeridverband erfolgende acetylierende Wirkung der starken Essigsäure hervor. Es erscheint sehr schwierig, die Aufspaltung dieser Acetylverbindungen ohne Verseifung des Glyzerides durchzuführen. Erst wenn diese Störungen behoben sind, kann dieses Oxydationsverfahren bei der Konstitutionsaufklärung der natürlichen Fette angewendet werden.

2. Elaidinierung.

Die von Poutet schon im Jahre 1819 entdeckte Elaidinreaktion wurde erst im Jahre 1914 von G.Tomow[2] soweit ausgebaut, dass sie zur Abscheidung einheitlicher Glyzeride aus natürlichen Fetten brauchbar wurde. Bei seinen systemati-

1) loc.cit.
2) loc.cit.

schen Untersuchungen zeigte sich, dass die bei Einwirkung von konzentrierter Salpetersäure auf Arsentrioxyd entstehende salpetrige Säure die besten Umlagerungsresultate bei der Bearbeitung von Olivenöl ergab. Des weiteren wurde untersucht, mit welchen Lösungsmitteln, bei welchen Temperaturen usw. die günstigsten Resultate zu erzielen waren. Durch das Studium dieser Verhältnisse gelang es ihm, nach dieser Methode, z.B. aus Olivenöl, feste, elaidinierte Glyzeride in einer Ausbeute von 60-70 % zu erhalten; er isolierte daraus durch fraktionierte Krystallisation ein Trielaidin und zwei gemischtsäurige Elaidine. In analoger Weise wurde dieses Verfahren angewendet von A.Eibner und K.Schmidinger [1] bei der Analyse von Leinöl, von E.Wheeler-Hill [2] bei der Untersuchung des Haferöls, von K.Täufel und J.G.Sarria [3] bei der Analyse eines spanischen Olivenöls sowie von K.Täufel und Cl.Bauschinger [4] bei der Untersuchung von Rüböl.

Nach den Untersuchungen von M.Rusch [5] bestehen, wie schon erwähnt, die im Gerstenfett vorhandenen Fettsäuren zu 32,8 %, beim Malzfett zu 20,5 % und beim Treberfett zu 24,0 % aus Ölsäure. Aus diesem Grunde erschien es sehr wahrscheinlich, dass die Elaidinreaktion im vorliegenden Falle zum Erfolg führen würde. Hierfür sprachen auch die bei einigen orientierenden Versuchen gemachten Beobachtungen. Es wurden die Fette von Gerste, Malz und Trebern nach dem von D.Holde und K.Rietz [6] ausgearbeiteten Verfahren in der Weise einer

---

1) Chem.Umschau Fette, Öle, Wachse, Harze 30, 293 (1923).
2) Diss. Universität München 1925.
3) Anales Soc.Española Fisica y Quimica 24, 25 (1926).
4) Ztschr.Unters.Lebensmittel 56, 265 (1928).
5) loc.cit.
6) Ber.Dtsch.chem.Ges. 57, 101 (1924).

Elaidinierung unterworfen, dass man in 30 %ige Salpetersäure, die von den Fetten überschichtet war, allmählich Natriumnitrit bei einer Temperatur von 30-35° eintrug. Dabei schieden sich relativ reichliche Mengen einer leicht flockigen Masse ab, die für das gesuchte Elaidinprodukt gehalten wurde.

Nachdem auf diese Weise in den vorliegenden Fällen die Elaidinierung als aussichtsreich anzusehen war, wurde das Untersuchungsmaterial nach der bewährten Methode von G.Tomow präparativ behandelt.

a) Beschreibung der Versuche. In eine Lösung von 300 g Gerstenfett in 450 g Aceton wurde 20 Minuten lang bei Zimmertemperatur ein langsamer Strom von gasförmiger salpetriger Säure (N_2O_3) eingeleitet. Letztere wurde in der Weise dargestellt, dass man aus einem kleinen Scheidetrichter konzentrierte Salpetersäure (spez.Gew. 1,35) unter vorsichtigem Erwärmen zu Arsentrioxyd tropfen liess. Das frei werdende Gas wurde erst nach dem Abkühlen in einer vorgelegten leeren Waschflasche in die Fettlösung eingeführt. Dabei erfolgte fast augenblicklich die Abscheidung eines festen, schmalzartigen Produktes; die Niederschlagsbildung war nach etwa 5 Minuten beendet. Bei der Abkühlung der mit salpetriger Säure gesättigten Lösung in Eiswasser erfolgte eine nochmalige Ausscheidung der schon beobachteten gelblichen Substanz, wodurch sich der Niederschlag mengenmässig auf das etwa fünffache erhöhte. Zur vollständigen Abscheidung der Elaidinprodukte wurde das Gemisch 3 Tage lang in Eis gestellt und erst dann durch einen mit Eiswasser ge-

kühlten Trichter mittels eines Faltenfilters abgetrennt. Die wegen der butterartigen Beschaffenheit des Produktes sicher nicht von Aceton freie Masse wog rund 45 g.

Da, wie eben erwähnt, beim Elaidinieren schon bei Zimmertemperatur eine relativ geringe Menge der festen Substanz ausgeschieden wurde, schien es ratsam, bei einem erneuten Versuch die erste Fraktion abzufiltrieren, um auf diese Weise die sich anschliessend durch Abkühlung erfolgende Ausscheidung gleich gesondert gewinnen zu können. Zu diesem Zwecke wurde wiederum in eine Lösung von 300 g Gerstenfett in Aceton, diesmal nur 400 g Aceton, 10 Minuten lang salpetrige Säure eingeleitet; nach 5 Minuten langem Stehen wurde der Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat blieb alsdann in Eis stehen, und die erneut ausgeschiedenen Produkte wurden nach 3 Tagen durch ein Faltenfilter abgetrennt. Das letztere Filtrat wurde, um die Vollständigkeit der Ausfällung zu prüfen, weitere zwei Tage in Eiswasser gestellt und zuletzt sogar bei der Temperatur eines Eis-Kochsalz-Gemisches aufbewahrt, ohne dass jedoch eine nochmalige nennenswerte Fällung eintrat.

Die Fällung bei Zimmertemperatur wog unmittelbar nach dem Filtrieren 12,8 g und die beim Abkühlen gewonnene 29,3 g. Um diese Quantitäten der zu untersuchenden Produkte zu erhöhen, wurde der Versuch ein drittes Mal mit derselben Menge des Ausgangsmaterials durchgeführt. Die bei Zimmertemperatur gefällten Produkte wurden ebenso wie die, die bei der nachherigen Abkühlung sich ausgeschieden hatten, jeweils miteinander vereinigt.

Da beim erstmaligen Elaidinieren des Gerstenfettes die beiden Fraktionen, nämlich das bei gewöhnlicher Temperatur ausgefallene wie auch das beim nachherigen Abkühlen ausgeschiedene Produkt, vereinigt waren, wurde eine Trennung durch fraktionierte Lösung versucht. Beim Erwärmen in Aceton löste sich der grössere Teil auf, während der kleinere auch beim Erhitzen am Rückflusskühler nicht in Lösung zu bringen war. Die ungelöste Substanz wurde im Heisswasser-Trichter abfiltriert und getrocknet. Das in der Hitze in der Acetonlösung verbliebene Produkt schied sich beim Erkalten wieder aus.

Zur Identifizierung wurde versucht, bei dem in heissem Aceton unlöslichen Produkt den Schmelzpunkt zu bestimmen. Es zeigte sich dabei, dass die Substanz beim Erhitzen auf etwa 180° verkohlte, ohne dass vorher eine Verflüssigung erfolgte. Der hierbei auftretende, sehr widrige Geruch liess vermuten, dass es sich dabei um ein phosphorhaltiges Produkt handelte. Um diese Frage wenigstens vorläufig zu klären, wurde eine Schmelze mit Soda und Salpeter ausgeführt. Nach dem Auflösen des Reaktionsproduktes in verdünnter Salpetersäure zeigte sich auf Zusatz von Ammonium-Molybdat ein gelber Niederschlag in beträchtlicher Menge. Damit war das Vorhandensein von Phosphorsäure bzw. Phosphor erwiesen. Von einer weiteren Untersuchung dieser Substanz wurde vorerst abgesehen, da zu erwarten war, dass bei der analogen Behandlung des Malz- und Treberfettes noch weiteres Material von gleicher Beschaffenheit dazu kommen würde.

Die Elaidinierung des Malz- und Treberfettes erfolgte in gleicher Weise, wie es oben beim Gerstenfett beschrieben wurde. In Übereinstimmung mit den eben erwähnten Beobachtungen fiel dabei sowohl beim Malz- wie beim Treberfett sofort ein phosphorhaltiger Anteil aus. Er wurde jeweils abfiltriert und für jedes Fett getrennt aufbewahrt. Jedesmal war nach vollzogener Soda-Salpeterschmelze mit Ammoniummolybdat die Anwesenheit von Phosphor nachgewiesen worden. Ebenso wurde jedesmal ein Versuch gemacht, den Schmelzpunkt zu bestimmen. Genau wie beim Gerstenfett trat dabei jedoch Verkohlung ein, ohne dass vorher Verflüssigung erfolgte; auch der beim analogen Produkt aus dem Gerstenfett auftretende charakteristische widrige Geruch wurde beobachtet.

Ein auffallender Unterschied zeigte sich bei den durch Elaidinierung aus Gersten-, Malz- und Treberfett gewonnenen Präparaten. Während nämlich, abgesehen von der phosphorhaltigen Fraktion, die in den drei Fällen in ziemlich gleicher Menge anfiel, beim Gerstenfett noch ein weiteres schmalzartiges Produkt in grösserer Menge beim Abkühlen in Eiswasser erhalten wurde, trat beim Malzfett nur ganz wenig Niederschlag an dieser Stelle auf und beim Treberfett überhaupt keine nennenswerte Fällung mehr. Da diese Erscheinung sehr auffällig war, wurde die Operation noch dreimal wiederholt, jedoch jedesmal mit gleichem Erfolg. Ein Versuch, den nachträglich beim Abkühlen aus dem Malzfett abgeschiedenen Teil ebenso wie beim Gerstenfett durch Filtrieren im Kalt-

wasser-Trichter abzutrennen, gelang nicht; er ging jedesmal durch das Filter. Analoge Erscheinungen traten bei der entsprechenden Behandlung des Traubenfettes ein. Es scheint, dass in beiden Fällen der Niederschlag entweder ein anderer war als beim Gerstenfett, oder aber, was wahrscheinlicher ist, dass wegen der geringen Menge eine weitgehende Emulsion im Lösungsmittel oder auch im nicht elaidinierten Öl stattgefunden hatte.

b) Die Identifizierung der Elaidinierungsprodukte.

Zur weiteren Untersuchung blieb nur das Elaidinprodukt aus dem Gerstenfett übrig. Dasselbe wurde zunächst abfiltriert und dann in heissem Aceton gelöst und zur Reinigung heiss filtriert. Nach dem Erkalten schied sich ein ziemlich festes, aber immer noch butterartiges, gelbliches Produkt ab, während auf dem Filter Schmutzstoffe in beachtlicher Menge zurückgeblieben waren. Das hellgelbe Produkt wurde in Äther aufgenommen, die Lösung filtriert und mit wässrigem Alkohol gefällt, wobei leider erhebliche Verluste eintraten. Das im Vakuumexsikkator getrocknete Produkt wurde in trockenem Äther gelöst und durch langsames Verdunstenlassen des Lösungsmittels eine Fraktionierung in drei Anteile durchgeführt. Die Fraktionen hatten ein völlig weisses Aussehen und zeigten bei der orientierenden Vorprobe folgende Schmelzpunkte: 74°, 72°, 72°. Da auf diese Art eine Trennung offensichtlich nicht zu erreichen war, wurde ein anderes Verfahren eingeschlagen. Es wurde

der aus ätherischer Lösung auf einem Uhrglas zuerst am Rande ausgeschiedene kleine Teil isoliert und dann der übrige in der Mutterlauge verbliebene Rest. Es ergab sich für ersteren ein Schmelzpunkt von 46,5°, für letzteren ein solcher von 72,0°. Durch die vielen Reinigungsarbeiten war das Material mengenmässig so knapp geworden, dass die in Aussicht genommene eingehende Untersuchung leider nicht möglich war.

Um aber doch noch einen gewissen Einblick in die Natur des vorliegenden Glyzerides zu erhalten, wurde versucht, durch Bromanlagerung die Zahl der Lückenbindungen zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wurden nach dem weiter unten genauer beschriebenen Verfahren von A.Eibner und K.Schmidinger die beiden Fraktionen (Smp. 46,5° bzw. 72,0°) jede für sich in Äther gelöst und die Lösungen nach dem Abkühlen auf - 10° tropfenweise mit Brom bis zur bleibenden Färbung versetzt. Nach zweistündigem Stehen in der Eis-Kochsalz-Kältemischung wurde das überschüssige Brom durch Ausschütteln mit wässriger Kaliumbikarbonat-Lösung entfernt. Zur restlosen Beseitigung des Kaliumbikarbonates wurde die Ätherlösung noch viermal mit Wasser gewaschen. Nach dieser Operation erfolgte die Verdunstung des Lösungsmittels auf dem Wasserbad. Im Rückstand wurde der Bromgehalt nach Carius ermittelt. Die geringen Mengen der noch vorhandenen Produkte machten eine Mikrobestimmung notwendig. Das aus der ersten Fraktion (Smp. 46,5°) erhaltene Produkt hatte einen Bromgehalt von 13,00 %.

3,175 mg Substanz ergaben 0,97 mg AgBr; Br_2 = 13,00 %.

Für die zweite Fraktion (Smp. 72,0°) ergab sich ein Gehalt an Brom von 22,32 %.

2,402 mg Substanz ergaben 1,26 mg AgBr; Br_2 = 22,32 %.

Nach den Analysen von M.Rusch finden sich im Gerstenfett [1] ausser Ölsäure noch Linol-, Linolen-, Palmitin- und Stearinsäure. Linol- und linolensäurehaltige Glyzeride scheiden im vorliegenden Falle insofern aus, als bei Anwesenheit einer dieser Säuren in der Molekel bei gleichzeitiger Gegenwart von Ölsäure, die ja für die Elaidinreaktion unentbehrlich ist, ein viel höherer Bromgehalt sich ergeben müsste, als hier gefunden wurde. Für die in Betracht zu ziehenden gemischtsäurigen Glyzeride stehen daher nur solche zur Diskussion, die neben Ölsäure Palmitin- und Stearinsäure enthalten. Nachstehende Tabelle 3 möge einen Überblick über die möglichen Glyzeride geben, die nach den Resultaten der Brombestimmungen für die vorliegenden Produkte in Frage kommen.

---

1) loc.cit.

Tabelle 3.

Übersicht über den Bromgehalt verschiedener gemischtsäuriger bromierter Glyzeride bei jedesmaliger Anwesenheit von Elaidinsäure.

Formel des Glyzerides	Zahl der Brom-Atome pro Molekül	%-Gehalt an Brom
Glyz. (Elaid. Elaid. Elaid.)	6	35,16
Glyz. (Elaid. Elaid. Palm.)	4	27,15
Glyz. (Elaid. Elaid. Stear.)	4	26,52
Glyz. (Elaid. Palm. Palm.)	2	16,11
Glyz. (Elaid. Stear. Stear.)	2	15,25
Glyz. (Elaid. Stear. Palm.)	2	15,68

Wie aus der Tabelle 3 ersichtlich, kann auf Grund des Bromgehaltes die Substanz, die einen Schmelzpunkt von 46,5° zeigte, nur ein Glyzerid sein, das lediglich eine einfach ungesättigte Fettsäure enthält. Die beiden anderen Hydroxyle des Glyzerids müssen mit gesättigten, kein Brom anlagernden Säuren besetzt sein, hier also mit

Palmitin- oder Stearinsäure. In gleicher Weise dürfte gemäss der Aufstellung der Tabelle 3 für das bei 72° schmelzende Produkt ein Glyzerid angenommen werden, das zwei Elaidinsäuren neben einer gesättigten Komponente enthält.

Dass in beiden Fällen der experimentell gefundene Bromgehalt etwas hinter dem theoretischen zurückbleibt, ist vielleicht damit zu erklären, dass wegen der geringen Substanzmenge die Temperatur beim Bromieren zu wenig erhöht wurde, weshalb die Bromierung etwas langsamer als gewöhnlich vor sich ging. Bei grösseren Mengen pflegt nämlich die Temperatur in der Lösung durch die Reaktionswärme bei der Zugabe von Brom stets bis zum Nullpunkt anzusteigen, während dies im vorliegenden Fall nicht geschah.

3. Bromierung.

Den stufenweisen Ausbau der quantitativen Bestimmung der ungesättigten Fettsäuren durch die Bromidmethode verdankt man insbesondere Süssenguth [1], K.Hazura [2], J.Lewkowitsch [3], O.Hehner und C.A.Mitchell [4], K.Farnsteiner [5], E.Erdmann und F.Bedford [6]. Schwankende Ausbeuten bei der Anwendung der angegebenen Arbeitsverfahren führten zu einer systematischen Überprüfung, die vor allem durch die Arbeiten von A.Eibner und H.Muggenthaler [7] erfolgreich beendet wurde.

---

1) Ztschr.f.Chemie 1865, S.563.
2) Monatshefte d.Chem. 8, 268 (1887); 9, 191 (1888).
3) The Analyst 27, 237 (1902).
4) The Analyst 23, 310 (1898).
5) Ztschr.Unters.Lebensmittel 6, 161 (1903).
6) Ztschr.physiol.Chem. 69, 77 (1910).
7) Farben-Ztg. 18, 131 (1912).

Der erste Versuch, aus den Fetten selbst zum Zwecke der Konstitutionsermittlung feste, krystallisierbare Bromprodukte herzustellen, dürfte auf O.Hehner und C.A.Mitchell [1] zurückgehen. Sie liessen auf Leinöl in ätherischer Lösung unter Zusatz von Eisessig Brom einwirken und erhielten ein festes Reaktionsprodukt vom Schmelzpunkt 144° mit einem Bromgehalt von 56,3 %; die Ausbeute stellte sich auf rund 25 % des angewandten Leinöls. Ein analoger Versuch dieser Art rührt von R.Henriques und H.Kuenne [2] her, die das Mkanifett durch Behandlung mit Chlorjod halogenisierten. Das dabei ausgeschiedene feste Produkt erwies sich nach der Enthalogenisierung als Oleodistearin. Dieser experimentelle Befund ist historisch von grossem Interesse insofern, als damit das erste natürlich vorkommende gemischtsäurige Glyzerid isoliert war.

Wie schon die eben erwähnten Autoren gefunden hatten, waren derartige Bromderivate der Glyzeride ausserordentlich schwer im reinen Zustande zu erhalten. Auch A.Eibner und H.Muggenthaler [3] hatten sich mit diesen Schwierigkeiten befasst, ohne sie zunächst überwinden zu können. Erst rund 10 Jahre später griffen A.Eibner und K.Schmidinger [4] dieses Thema wieder auf. Unter Weglassung des von O.Hehner und C.A.Mitchell angewendeten Eisessigs und bei Anwendung einer starken Kühlung gelang es den beiden Autoren, diese Methode schliesslich für den analytischen Gebrauch soweit auszuge-

---

1) loc.cit.
2) Chem.Rev. Fette, Öle, Wachse, Harze 6, 45 (1899).
3) loc.cit.
4) Chem.Umschau Fette, Öle, Wachse, Harze 30, 293 (1923).

stalten, dass heute in der Methode der sogenannten Bromierung ein Verfahren vorliegt, das bei der Konstitutionsaufklärung von Fetten, bei denen höher ungesättigte Fettsäuren, wie z.B. Linol- und Linolensäure, eine Rolle spielen, allgemeine Anwendung findet.

Auf Grund der Kenntnis, dass am Aufbau von Gersten-, Malz- und Treberfett die Linolsäure zu recht erheblichen Prozentsätzen (über 50 %) beteiligt ist, war die Anwesenheit von linolsäurereichen Glyzeriden zu erwarten. Demgemäss schien das Verfahren der Bromierung zur Abscheidung fester, durch Umkrystallisieren zu reinigender Bromglyzeride sehr aussichtsreich. Ob dabei der Ausfall solcher Bromderivate in der ätherischen oder petrolätherischen Lösung erfolgte, konnte nicht vorausgesehen werden, da über die Eigenschaften gemischtsäuriger Glyzeride, an deren Aufbau Tetrabromstearinsäure beteiligt ist, nur sehr wenig Erfahrungen vorhanden sind. Besonderer Grund zur Anwendung des Bromidverfahrens lag noch in dem Umstand, dass es vor demjenigen des Elaidinierens erhebliche Vorteile voraus hat. Einmal wird durch die Einführung des Broms ein Festwerden erreicht, was die Möglichkeit der fraktionierten Fällung an die Hand gibt. Zum andern sind die in Betracht kommenden ungesättigten Glyzeride durch das addierte Brom in ihren ungesättigten Fettsäuren gleichsam in charakteristischer Weise gekennzeichnet, wodurch sich ihre Identität meistens relativ leicht feststellen lässt. Es kommt hinzu, dass durch die Möglichkeit der Zurückführung der gebromten Fettsäuren in ihren ursprünglich ungesättigten Zustand eine Kontrolle der Versuchsergebnisse an die Hand gegeben ist. Bei den nachstehend beschriebenen Versuchen wurde die Arbeitsmethode von A.Eibner und K.Schmidinger angewendet.

a) Beschreibung der Versuche. 200 g Gerstenfett wurden in 2 Liter wasserfreiem Äther gelöst und dann in einer Eis-Kochsalzmischung auf - 12° abgekühlt. Darauf wurde tropfenweise Brom zugegeben, indem ständig dafür gesorgt wurde, dass die Temperatur der Lösung nicht über 0° stieg.

Ähnlich wie beim Elaidinieren schied sich auch hier zunächst in geringer Menge eine dunkle zähflüssige Masse ab, die durch Filtration abgetrennt wurde. Beim Behandeln mit heissem Petroläther und ebenso mit Chloroform oder Äther zeigte sich, dass nur ein Teil des Niederschlages, wahrscheinlich nur die nach der Filtration noch anhaftenden, öligen Begleitstoffe in Lösung gingen, während der Hauptanteil fest zurückblieb. Dieser unlösliche Rückstand gab nach der Soda-Salpeterschmelze, ebenso wie das früher schon erwähnte, zuerst ausfallende Elaidinprodukt, positive Phosphorsäure-Reaktion, und bei dem Versuche, den Schmelzpunkt zu bestimmen, trat bei ziemlich hoher Temperatur (ca.180°) Zersetzung ein, ohne dass die Substanz vorher zum Schmelzen kam. Parallelversuche mit Malz- und Treberfett ergaben das gleiche Produkt.

Gegenüber den Phosphorverbindungen aus dem Elaidinierungsverfahren zeigten die hier gewonnenen Verbindungen ein wesentlich anderes Aussehen. Sie hatten eine gewisse Ähnlichkeit mit trockenen, zerbrochenen Tabakblättern. Das nach dem Verkohlen mit heisser konzentrierter Schwefelsäure erhaltene und nach entsprechender Verdünnung filtrierte Reaktionsgemisch ergab im Filtrat mit Silbernitrat eine reichliche Fällung von Bromsilber. Offenbar hatten sich Bromanlagerungsprodukte der Phosphorverbindungen (Phosphatide)

gebildet; auch mit der Möglichkeit einer adsorbtiven Bindung von Brom ist unter Umständen zu rechnen. Leider waren die Mengen der auf diese Weise erhaltenen Reaktionsprodukte zu gering, um sie zum Gegenstand eingehender Versuche machen zu können. Was darüber zu ermitteln war, ist später näher ausgeführt.

Nach Abscheidung dieser phosphorhaltigen Substanz wurde der Äther abdestilliert und dann aus dem Rückstand durch Zugabe einer wässrigen Lösung von Kaliumbicarbonat und wenig Alkohol das überschüssige Brom entfernt. Darnach wurde die bromfreie, zähflüssige Masse in warmem Petroläther zur Lösung gebracht. Beim Abkühlen in Eis fiel daraus ein Teil aus, der etwa butterartige Konsistenz hatte. Die Unlöslichkeit dieses Produktes in kaltem Petroläther einerseits und die vorher gezeigte Löslichkeit in kaltem Äther anderseits legte die Vermutung nahe, dass es sich bei dieser Substanz um ein Bromderivat eines linolsäurehaltigen Glyzerides handelte; bekanntlich zeigt die Tetrabromverbindung der Linolsäure ebenfalls diese Löslichkeitsverhältnisse. Die analoge Behandlung des Malz- und Treberfettes führte zu gleichen Resultaten. Es wurde nun versucht, diese petrolätherunlöslichen Bromprodukte zu identifizieren. Dies setzt zunächst eine Reinigung sowie den Nachweis der Einheitlichkeit voraus.

b) Das Bromglyzerid des Gerstenfettes. Das butterartige dunkelbraune Bromierungsprodukt, welches in der oben beschriebenen Weise aus 200 g Gerstenfett gewonnen war, wurde in heissem Chloroform gelöst und dann durch Zugabe von Alkohol und Wasser wieder zur Ausfällung gebracht. Es zeigte sich ein

gelblichweisser flockiger Niederschlag mit einem Schmelzpunkt von rund 142°. Beim Eindunsten des Lösungsmittels schied sich noch weiter Substanz ab, die einen Schmelzpunkt von 150° aufwies. Beide Fraktionen wurden, da der Schmelzpunkt derselben ziemlich nahe beieinander lag, wieder vereinigt, aufs neue in Chloroform gelöst und mit Alkohol und diesmal sehr viel Wasser gefällt. Der Niederschlag zeigte einen Schmelzpunkt von 142,5°, der sich bei der Wiederholung der Erhitzung nach dem Erkalten der Schmelze (mindestens 1 Stunde Wartezeit) auf 139,0° erniedrigte. Dieses Verhalten des Bromglyzerides erinnert an dasjenige der Glyzeride überhaupt, bei denen man allgemein von einem doppelten Schmelzpunkt spricht. Es sei hingewiesen auf Tristearin, das normal (gewonnen aus einer Lösung oder durch sehr langsames Erstarren einer Schmelze) bei 71,6° bis 73,2°, dessen rasch zum Erstarren gebrachte Schmelze aber bei 55,5° flüssig wird. Für diese Erscheinung hat man bisher noch keine ganz befriedigende Erklärung: Die chemische Auffassung führt dieses doppelte Schmelzen eines Glyzerides (auch Mono- und Diglyzeride zeigen diese Eigentümlichkeit) [1] auf das Bestehen isomerer Modifikationen zurück, deren eine labil ist und den niedrigen Schmelzpunkt, deren andere die stabile Form darstellt und den höheren Schmelzpunkt besitzt. Es ist interessant festzustellen, dass auch die gebromten Glyzeride ein doppeltes Schmelzen zeigen.

Um ein Urteil über die Einheitlichkeit des Produktes zu bekommen, wurde eine fraktionierte Krystallisation durchge-

---

1) E.Fischer, M.Bergmann u.H.Bärwind, Ber.Dtsch.chem.Ges. 53, 1599 (1920); A.Grün u.E.Theimer, Ber.Dtsch.chem.Ges. 40, 1799 (1907).

führt. Aus einer gesättigten Chloroformlösung wurde zuerst ein Teil des Lösungsmittels abgedunstet. Der Schmelzpunkt der dabei ausgeschiedenen mehligen Substanz lag bei 139,0°. Den gleichen Schmelzpunkt zeigte das durch vollständige Eindunstung aus der Mutterlauge gewonnene Produkt. Die Übereinstimmung der Schmelzpunkte der aus der Lösung sowie der aus der Mutterlauge gewonnenen Substanz wurde gemäss dem Vorgang von Duffy [1] als Beweis für die Einheitlichkeit der vorliegenden Verbindung angesehen. Bei erneutem Erhitzen der durch Erkalten wieder fest gewordenen Schmelze sank der Schmelzpunkt für beide Fraktionen auf 138,0°. Diese erneute Änderung des Schmelzpunktes dürfte (worauf bei der experimentellen Behandlung leider nicht genügend Rücksicht genommen wurde) darauf zurückzuführen sein, dass das Erkalten der Schmelze unter veränderten Bedingungen vor sich ging und wahrscheinlich der wirkliche Endzustand nicht erreicht war.

Die vielen Reinigungsoperationen waren mit erheblichen Substanzverlusten verbunden. Es wurde daher von der Ermittlung der Verseifungszahl Abstand genommen. Um sofort einen Einblick in die Art des vorliegenden Glyzerides zu erlangen, insbesondere den Grad seines Ungesättigtseins festzustellen, wurde eine mikroanalytische Bestimmung des Broms durchgeführt. Sie ergab einen Wert von 58,70 %.

4,321 mg Substanz ergaben 5,96 mg AgBr = 58,70 % Br_2.

Für die Auswertung dieses Befundes sei die nachstehende Tabelle 4 angeführt.

---

1) loc.cit.

Tabelle 4.

Übersicht über den Bromgehalt verschiedener gemischtsäuriger bromierter Glyzeride mit einem Bromgehalt zwischen 52 und 59 %.

Formel des Glyzerides	Zahl der Brom-Atome pro Molekül	%-Gehalt an Brom
Glyz. { Linolsäure Linolsäure Linolsäure	12	52,20
Glyz. { Linolsäure Linolsäure Linolensäure	14	56,09
Glyz. { Linolsäure Linolensäure Linolensäure	16	59,36

Bei Betrachtung der vorstehenden Tabelle 4 möchte man sich zunächst für ein Monolinol-dilinolenin entscheiden, da der experimentell gefundene Bromgehalt des untersuchten Materials von 58,7 % mit dem für diese Verbindung zu fordernden von 59,36 % am besten übereinstimmt. Dieser Annahme widersprechen folgende Tatsachen. Einmal ist der von M.Rusch gefundene Gehalt an Linolensäure für die untersuchten Fette so gering (für Gerstenfett 0,52 %), dass ein Monolinol-dilinolenin ziemlich unwahrscheinlich ist. Zum andern ergab sich die Abwesenheit von Linolensäure in dem hier zur Diskussion stehenden Bromglyzerid auf folgende Weise. Dasselbe wurde verseift, aus der Seife die Fettsäure durch An-

säuern frei gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Der Abdunstungsrückstand wurde mit Zink und alkoholischer Salzsäure entbromt. Bei der Wiederbromierung der auf diese Weise erhaltenen Fettsäuren in ätherischer Lösung trat kein Niederschlag, nicht einmal eine Trübung auf. Daraus ist auf die Abwesenheit von Linolensäure zu schliessen. Sonach scheiden linolensäurehaltige Glyzeride aus.

Mit ziemlich günstigem Resultat für die Anschauung, dass nur Linolsäure im Glyzerid vorliegt, fiel der Wert für die Neutralisationszahl aus. Die Entbromung der aus dem Bromglyzerid in Freiheit gesetzten Fettsäuren wurde mit einer 5-fach normalen alkoholischen Salzsäurelösung durchgeführt [1]. Durch Zusatz von viel Wasser (etwa 5 mal so viel) und wässriger Salzsäure wurde die Fettsäure zur Abscheidung gebracht und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Fettsäurelösung wurde noch viermal mit Wasser gewaschen, dann die Lösung mit Natriumsulfat getrocknet und filtriert. Nach Verdunstung des Lösungsmittels blieben 0,1084 g freie Fettsäure zurück, mit der nun die Neutralisationszahl bestimmt wurde. Dieselbe lag bei 200,9 .

0,1084 g Fettsäure verbr. 21,77 mg KOH; Neutr.Z. = 200,9 .

Da die Ermittlung der Neutralisationszahl mit verhältnismässig wenig Operationen verbunden ist, kann mit ziemlicher Sicherheit angenommen werden, dass bei ihrer Bestimmung nur ein verhältnismässig kleiner Versuchsfehler auftritt.

---

1) Nach A.Grün, loc.cit., S.225.

Theoretisch ergibt sich für ein Gemisch von Linol- und Linolensäure im Verhältnis von 2:1 eine Neutralisationszahl von 200,72 , für ein solches im Verhältnis von 1:2 eine solche von 201,18 , während reine Linolsäure eine Neutralisationszahl von 200,20 aufweist. Ist es nun auch nicht leicht möglich, bei der Neutralisationszahl-Bestimmung in der Genauigkeit so weit zu kommen, dass schon solche Verschiebungen in der Zusammensetzung eines Fettsäure-Gemisches mit Sicherheit zu erkennen sind, wie sie in unserem Falle unterschieden werden müssten, so bringt doch das experimentelle Untersuchungsergebnis keine triftigen Gründe gegen das Vorliegen von reiner Linolsäure.

c) Die Bromglyzeride des Malz- und Treberfettes. Nachdem die Analyse des Bromglyzerides aus dem Gerstenfett durchgeführt war, wurden die gleichen Versuche mit den analogen Produkten aus dem Malz- und Treberfett angestellt.

Das aus der heissen Petroläther-lösung in der Kälte dunkelbraun ausgeschiedene Produkt hatte etwa butterartige Konsistenz. Es wurde zuerst durch Auflösen in Chloroform und nachheriges Fällen durch Zugabe von wässrigem Alkohol zu reinigen versucht. Da sich dabei weder das Produkt aus dem Malzfett noch dasjenige aus dem Treberfett in seiner Konsistenz wesentlich änderte, wurden einige - etwa dreimal - Umlösungen aus Äther vorgenommen und die Fällung mit Alkohol und Wasser durchgeführt. Nachdem auch dadurch keine weitere Veränderung eingetreten war, folgte eine Reinigung durch Kochen mit Tierkohle. Dadurch wurde lediglich ein geringes Aufhellen in der Farbe erreicht.

Da das ganze Verhalten darauf schliessen liess, dass beide Produkte einheitliche Substanzen darstellten, wurde bei dem Malzfett - beim Treberfett war dies wegen der geringen Substanzmenge nicht möglich - eine fraktionierte Fällung aus einer Lösung in einem Gemisch von Äther - Alkohol im Verhältnis von 2:1 in der Weise durchgeführt, dass der nach der Verdunstung von etwa 1/3 des Lösungsmittels sich abscheidende Teil und der nach der völligen Verdampfung desselben zurückbleibende Rest getrennt wurden. Aussehen und Konsistenz waren bei beiden Fraktionen gleich, und sie unterschieden sich auch in nichts von dem nicht fraktionierten Bromprodukt aus dem Treberfett. Es erfolgte nun in allen drei Fällen je eine mikroanalytische Brombestimmung mit dem Erfolg, dass sich bei der Abscheidung aus dem Treberfett ein Bromgehalt von 41,99 %, bei den beiden Fraktionen des Malzfettproduktes ein solcher von 43,84 % bzw. 44,00 % ergab.

1) Treberfett		3,071 mg	ergaben 3,03 mg AgBr;	Br_2 = 41,99 %.
2) Malzfett	a)	4,455 mg	" 4,59 mg AgBr;	Br_2 = 43,84 %.
	b)	4,314 mg	" 4,46 mg AgBr;	Br_2 = 44,00 %.

Wie aus der Brombestimmung ersichtlich, dürfte das Produkt aus dem Malzfett einheitlich sein. Was den Unterschied im Bromgehalt der aus dem Treberfett gewonnenen Substanz anlangt, so ist es wohl möglich, dass bei der Bromierung die Reaktion in dem einen Fall durch tiefere Temperatur im Reaktionsgemisch etwas langsamer vor sich ging als im andern und daher unvollständig blieb.

Hinsichtlich der Auswertung des jeweils experimentell gefundenen Halogengehaltes sei auf die folgende Tabelle 5 hingewiesen. Einschränkend muss aber hier hinzugefügt werden, dass Anhaltspunkte für die Einheitlichkeit der bromhaltigen Produkte bis auf die allerdings wenig aussagende Übereinstimmung des Bromgehaltes nicht gegeben waren. Die im folgenden gezogenen Schlüsse sind daher nur mit allem Vorbehalt aufzunehmen.

Tabelle 5.

Übersicht über den Bromgehalt verschiedener gemischtsäuriger bromierter Glyzeride mit einem Bromgehalt von 35 - 48 %.

Formel des Glyzerides	Zahl der Brom-Atome pro Molekül	%-Gehalt an Brom
Glyz. { Öl, Öl, Öl	6	35,16
Glyz. { Linol, Öl, Öl	8	42,20
Glyz. { Linol, Linol, Öl	10	47,77

Dem experimentell gefundenen Wert am nächsten liegend käme hier ein Monolinol-diolein in Frage, das einen theoretischen Bromgehalt von 42,20 % aufweisen müsste. Zur weiteren Festigung dieser Ansicht und zur Ausschaltung der übrigen beiden in Tabelle 5 genannten Glyzeride

könnte man auf die Vermutung kommen, die Neutralisationszahlen der aus den Glyzeriden nach der Entbromung in Freiheit gesetzten Fettsäuren heranzuziehen. Wie eine Überschlagsrechnung jedoch lehrt, liegen dieselben so nahe beieinander, dass auf dieser Grundlage Schlüsse nicht möglich sind:

Reine Ölsäure Neutr.-Z. = 198,75
Gemisch von Öl- und Linolsäure i.V. von 2:1 Neutr.-Z. = 199,23
Gemisch von Öl- und Linolsäure i.V. von 1:2 Neutr.-Z. = 199,67

Die entbromten Fettsäuren der vereinigten Bromglyzeride aus Treber- und Malzfett ergaben eine Neurtalisationszahl von 198,8.

0,0770 g Säure verbr. 15,30 mg KOH; Neutr.-Z. = 198,78 .

Auf Grund der angestellten Untersuchungen lassen sich somit über die Art der aus Malz- und Treberfett abgeschiedenen Bromglyzeride keine bestimmten Angaben machen. Nur so viel dürfte sicher sein, nämlich dass es sich jeweils um gemischtsäurige Glyzeride aus Öl- und Linolsäure handelt. Dass letztere Säure anwesend ist, dafür ist Beweis einmal das Ausfallen des gebromten Glyzerides aus petrolätherischer Lösung, zum andern der gegenüber einem reinen Triolein wesentlich erhöhte Bromgehalt. Ob es sich nun um ein Monolinol-diolein oder um ein Dilinol-monoolein handelt, darüber kann eine Entscheidung nicht getroffen werden. Auf Grund des hohen Gehaltes der Fette von Malz und Trebern an Linolsäure wäre vor allem ein Trilinolein zu erwarten, was merkwürdigerweise nicht gefasst wurde.

IV. Über die Phosphatide der untersuchten Fette.

Wie schon an früherer Stelle erwähnt, schieden sich sowohl beim Elaidinieren wie auch beim Bromieren der drei untersuchten Fette phosphorhaltige Produkte aus, die sich in keinem der gebräuchlichen organischen Lösungsmittel lösten. Erst durch Erhitzen in 50 proz. Alkohol, gelang es, die Substanz, die beim Elaidinieren sich abgeschieden hatte, in Lösung zu bringen. Das beim Bromieren an der gleichen Stelle ausgefallene Produkt war auch in diesem verdünnten Alkohol unlöslich. Da aus diesem Grunde eine Reinigung recht erhebliche Schwierigkeiten bereitet hätte, wenn sie nicht gar unmöglich geworden wäre, wurde für die weitere Untersuchung lediglich das Elaidinprodukt verwendet. Dasselbe wurde mit Tierkohle behandelt, wobei sich eine Aufhellung der vorher ziemlich dunklen Farbe des Präparates zeigte. Es bestand nach dieser Operation aus dünnen, zelluloidartig glänzenden, schwach durchscheinenden Blättchen von rötlichbrauner Farbe.

a) Bestimmung des Phosphors. Das in der früher beschriebenen Weise gewonnene Material wurde mit Soda und Salpeter geschmolzen und die Schmelze mit Wasser und verdünnter Salpetersäure zur Lösung gebracht. Auf Zusatz von Ammoniummolybdat fiel das entsprechende Phosphorsäureprodukt in reichlicher Menge aus. Der Niederschlag wurde abfiltriert, in Ammoniak gelöst und mit

Magnesia-Mixtur als Magnesium-Ammoniumphosphat zur Fällung gebracht. Nachdem dieses Produkt durch Glühen in das Magnesium-Pyrophosphat übergeführt war, wurde es gewogen und der Phosphorgehalt berechnet. Derselbe ergab sich zu 1,475 %.

0,2308 g Subst. ergaben 0,0122 g $Mg_2P_2O_7$ - 3,4 mg P = 1,475 %.

b) Bestimmung des Stickstoffes. Für die Stickstoffbestimmung wurde die Methode von Kjeldahl in der üblichen Weise angewendet.

0,2260 g Subst.; Verbrauch an n/10 HCl 0,92 ccm;

% Stickstoff = 0,570.

Es wurden also gefunden 1,475 % Phosphor und 0,570 % Stickstoff. Setzt man an Stelle der absoluten Prozentzahlen die Äquivalente, so ergibt sich für Phosphor 0,0476 und für Stickstoff 0,0407. Dies kommt einem Verhältnis von Stickstoff zu Phosphor von 1:1 so nahe, dass man aussagen darf, es handelt sich bei der vorliegenden Substanz um ein Monoamino-monophosphatid.

V. Zusammenfassung.

1) An Hand eines Überblickes über die Kenntnisse auf dem Gebiete des Gersten-, Malz- und Treberfettes wird auf die vorhandenen Lücken hingewiesen und die Notwendigkeit weiterer Forschungen in verschiedener Richtung aufgezeigt.

2) Durch orientierende Untersuchung wird dargelegt, dass die zur Verwendung kommenden Untersuchungsmaterialien, die als Überschuss von früheren Untersuchungen über 2 Jahre lang aufbewahrt worden waren, wesentliche Veränderungen während dieser Zeit nicht erlitten haben.

3) Die bei der über zweijährigen Lagerung der hier zu betrachtenden Fette ausgeschiedenen festen Anteile werden abgetrennt und nach entsprechenden Löslichkeitsversuchen durch Umkrystallisieren bis zum konstanten Schmelzpunkt gereinigt.

4) Der positive Ausfall der üblichen Reaktionen auf Sterine zeigt, dass die bei 88,5° schmelzende Substanz in diese Stoffgruppe gehört.

5) Auf Grund der angestellten Verseifungsversuche handelt es sich um einen Sterinester, als dessen eine Komponente Palmitinsäure, als dessen andere Komponente Sitosterin ermittelt wird.

6) Der Nachweis von Palmitinsäure erfolgt an Hand von Schmelzpunkt und Neutralisationszahl der aus dem Sterid durch Verseifen in Freiheit gesetzten Säure.

7) Der Nachweis des Sitosterins wird an Hand des Schmelzpunktes desselben, desjenigen seines Acetylderivates sowie unter Heranziehung der Jodzahl geführt.

8) Es wird gezeigt, dass das nachgewiesene Sitosterin mindestens 4,4 % gesättigtes Sterin (Dihydrositosterin) enthält.

9) Die analogen Abscheidungen aus dem Malz- und Treberfett sind mit dem aus Gerstenfett isolierten Produkt identisch.

10) Auf Grund des Schrifttums wird ein Überblick über die bis jetzt ausgearbeiteten Methoden zur Abscheidung einheitlicher Glyzeride aus den natürlichen Fetten gegeben und diskutiert, welche dieser Verfahren für den vorliegenden Zweck geeignet sind.

11) Bei der Behandlung von Gersten-, Malz- und Treberfett mit salpetriger Säure (Elaidinieren) wird ein phosphorhaltiger Anteil ausgeschieden. Im Unterschied zu den

beiden anderen Fetten liefert das Gerstenfett ausserdem noch feste phosphorfreie Elaidinierungsprodukte, für die wahrscheinlich gemacht wird, dass sie einmal ein gemischtsäuriges Glyzerid mit 1 Mol Ölsäure neben Palmitin- oder Stearinsäure darstellen, zum andern ein solches aus 2 Mol Ölsäure und 1 Mol gesättigter Fettsäure.

12) Durch kritische Betrachtung werden die Vorteile des Bromidverfahrens bei der Isolierung einheitlicher Glyzeride aus den natürlichen Fetten hervorgehoben.

13) Mittels Bromierung werden aus dem Gersten-, Malz- und Treberfett jeweils ein phosphor- und bromhaltiger Anteil sowie ein bromhaltiges Glyzerid abgeschieden.

14) Das durch Bromierung aus dem Gerstenfett abgeschiedene Bromglyzerid weist darauf hin, dass im ursprünglichen Fett Trilinolein vorhanden ist.

15) Das bei der Bromierung aus Malz- und Treberfett abgeschiedene Bromglyzerid gibt bei seiner Untersuchung Anhaltspunkte an die Hand, dass in diesen Fetten Monolinol-diolein präformiert ist.

16) Das beim Elaidinieren abgeschiedene phosphorhaltige Produkt dürfte als ein Monoamino-monophosphatid anzusprechen sein.

Lebenslauf.

Am 21. April 1898 wurde ich, Georg Gamperl, als Sohn des Landwirts Jakob Gamperl zu Aresing (Bez.-Amt Schrobenhausen in Obb.) geboren. Von 1910 bis 1915 besuchte ich das humanistische Gymnasium zu Ingolstadt, von 1915 bis zum Eintritt in das Heer im November 1916 das Wittelsbacher Gymnasium in München. Nach Entlassung aus dem Heeresdienst erhielt ich nach Besuch eines Kriegssonderkurses am Luitpoldgymnasium in München 1919 das Reifezeugnis und studierte an den Universitäten München und Würzburg Chemie. Anfang Wintersemester 1924/25 legte ich das anorganische, Ende Sommersemester 1926 das organische Verbandsexamen in Würzburg ab. Nach zweijährigem Aufenthalt in Südbrasilien kam ich im Sommersemester 1928 wieder nach Deutschland zurück und beschäftigte mich nach Ablegung der Nahrungsmittelchemiker-Vorprüfung am Institut für pharmazeutische und Lebensmittelchemie an der Universität München mit der vorliegenden Arbeit.